

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sistem Saraf

Sistem saraf manusia berperan dalam mengontrol seluruh aktivitas manusia. Sistem saraf terbagi menjadi sistem saraf pusat dan sistem saraf perifer. Sistem saraf pusatlah yang menerima dan memberikan perintah dari dan kepada sistem saraf perifer untuk menjalankan seluruh kegiatan yang hendak dilakukan. Sistem saraf pusat terdiri dari serebrum, serebelum, batang otak, dan korda spinalis. Sedangkan sistem saraf perifer terdiri dari 12 pasang nervus kranialis dan 31 pasang nervus spinalis (Khuruna, 2007).

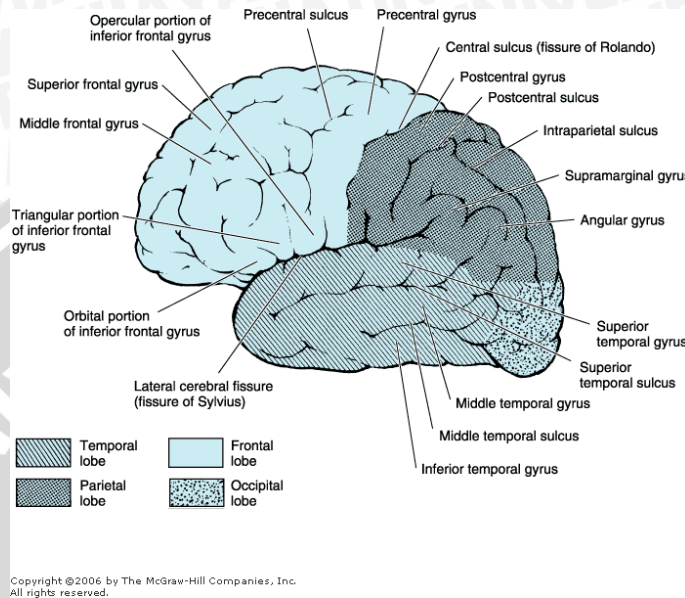
Sistem saraf, secara keseluruhan, memiliki suatu unit fungsional yang disebut neuron. Neuron berfungsi sebagai penerima dan pemberi respon terhadap berbagai perubahan yang terjadi pada lingkungan, baik dari dalam maupun dari luar tubuh manusia. Manusia sendiri mengandung lebih dari 100 miliar neuron yang saling berhubungan dan bekerja secara berurutan dengan sistem yang sangat rumit (Khuruna, 2007).

2.1.1 Anatomi Otak

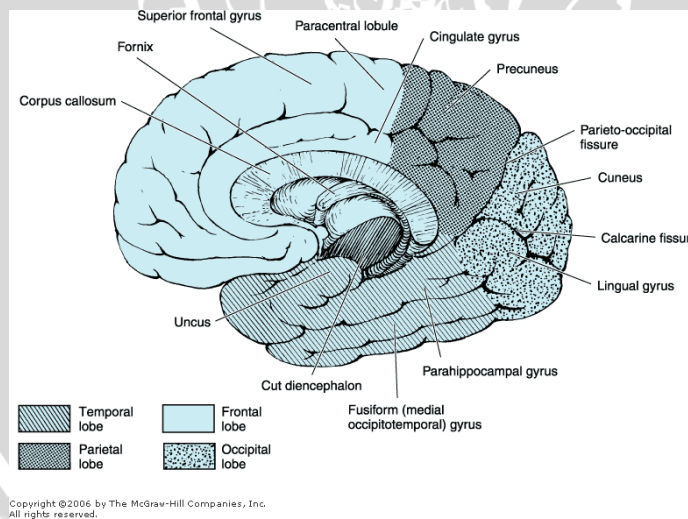
2.1.1.1 Pembagian Korteks Otak

Serebrum atau otak besar dibagi menjadi dua hemisfer oleh fisura longitudinalis serebri. Setiap hemisfer terbagi menjadi 4 lobus, yaitu lobus frontalis, parietalis, oksipitalis, dan temporalis. Otak juga mengalami pelipatan-pelipatan konvulsi (girus) yang dipisahkan oleh alur (sulkus atau fisura). Girus

dan sulkus ini akan membagi otak menjadi banyak bagian (Baehr dan Frotscher, 2010), seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.1 dan 2.2.



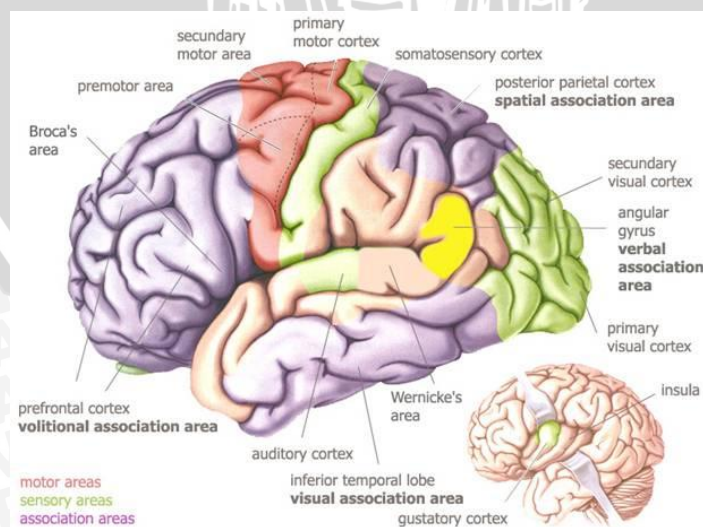
Gambar 2.1 Girus dan sulkus kortikal serebrum (tampak lateral) (Ghimire, 2013)



Gambar 2.2 Girus dan sulkus kortikal serebrum (tampak medial) (Ghimire, 2013)

Pembagian area korteks otak didasarkan pada peta sitoarsitektural korteks serebri Brodmann, seperti yang diilustrasikan pada gambar 2.3. Area korteks primer dibagi menjadi 2. Pertama, area korteks somatosensorik primer

(area 1, 2, 3), terletak di girus postsentralis lobus parietalis, berfungsi untuk persepsi terhadap rasa nyeri, suhu, dan sensasi somatik serta proprioseptif secara sadar, terutama dari separuh bagian tubuh dan wajah kontralateral. Kedua, area korteks motorik primer (area 4), terletak di girus presentralis lobus frontalis dinding anterior sulkus sentralis, berfungsi sebagai tempat asal gerakan volunter. Korteks visual primer (area 17), terletak di dalam sulkus kalkarinus lobus oksipitalis. Korteks auditorik primer (area 41), terletak di girus transversus *Heschl* yang membentuk permukaan atas girus temporalis superior. Korteks gustatorik primer (area 43), terletak di girus frontalis inferior pars operkularis bagian ventral korteks somatosensorik dan di atas sulkus lateralis. Korteks vestibularis primer (area 2v, 3a), area 2v terletak di lobus parietalis dasar sulkus intraparietalis, berfungsi untuk menimbulkan sensasi pergerakan dan vertigo. Sedangkan area 3a terletak di dasar sulkus sentralis dekat dengan korteks motorik, berfungsi untuk mengintegrasikan informasi somatosensorik, sensori khusus, dan motorik, untuk mengontrol posisi kepala dan tubuh (Baehr dan Frotscher, 2010).



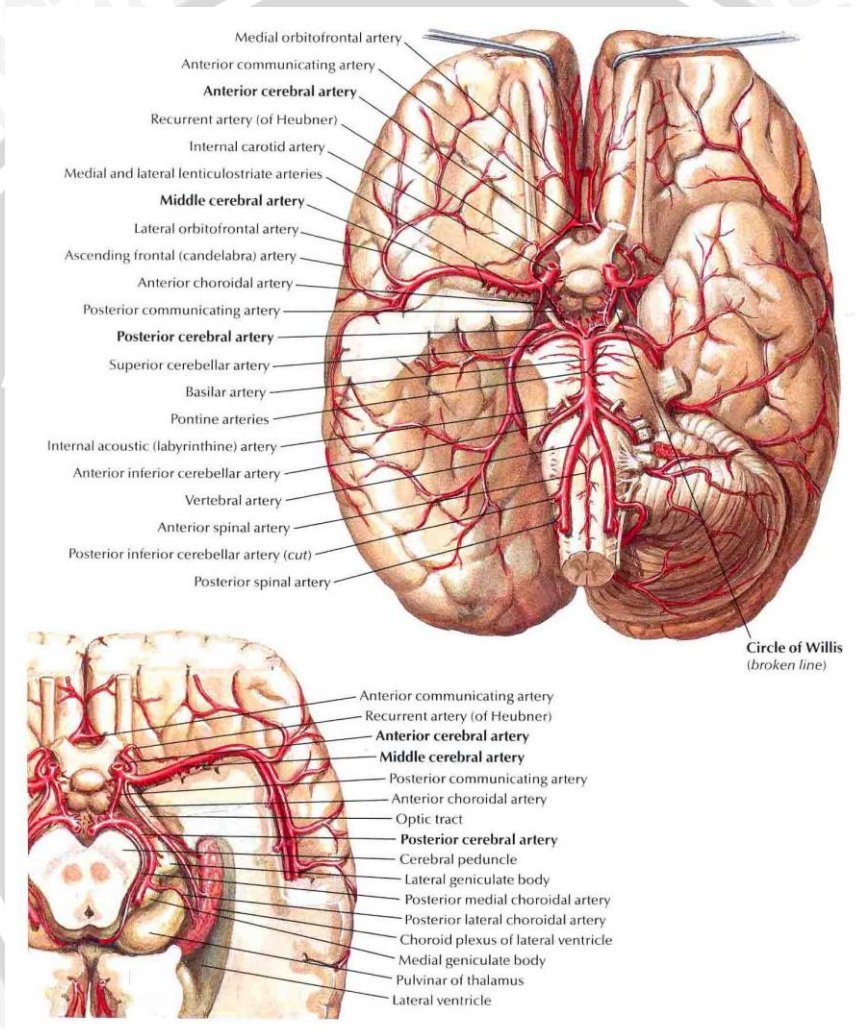
Gambar 2.3 Pembagian korteks otak berdasarkan fungsinya (Manuel, 2011)

2.1.1.2 Suplai Darah Arteri Otak

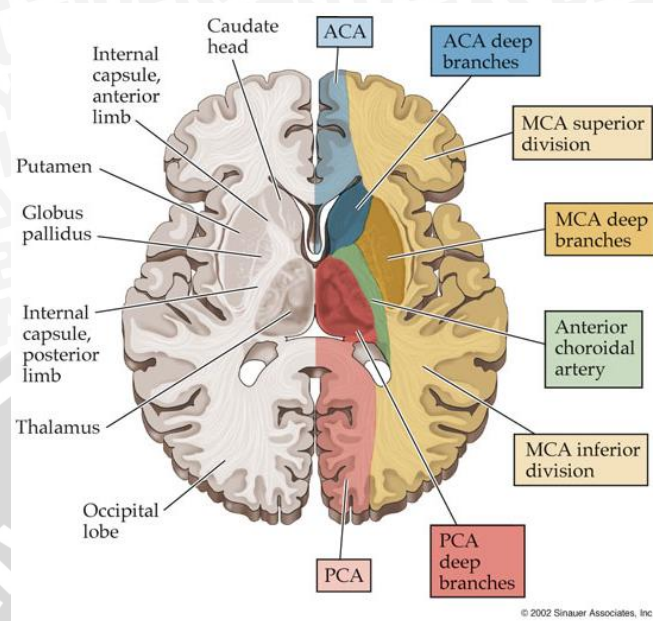
Otak besar atau serebrum, mendapatkan suplai darah dari arteri vertebralis dan arteri karotis interna. Cabang-cabang kedua arteri tersebut yang memberikan suplai darah ke otak seperti yang nampak pada gambar 2.4. Arteri vertebralis berasal dari a. subklavia yang merupakan cabang aorta. Cabang utama arteri vertebralis adalah a. inferior posterior serebri. Arteri vertebralis kanan dan kiri kemudian menyatu di depan batang otak membentuk a. basilaris. Cabang a. basilaris mayor adalah a. inferior anterior serebri, sedangkan cabang a. basilaris yang terletak di ujung bawah adalah a. superior serebri. Cabang arteri vertebralis paling banyak memberikan suplai darah kepada serebelum. Kemudian ujung a. basilaris membentuk *basilar tip* yang bercabang menjadi 2 arteri serebri posterior. Arteri ini juga mendapatkan sedikit darah dari arteri komunikans posterior. Cabang-cabang arteri serebri posterior memberikan suplai darah ke bagian lateral talamus dan korteks visual di sulcus kalkarinus (Bradac, 2011).

Arteri karotis interna, berasal dari arteri karotis komunis yang merupakan cabang aorta. Arteri ini memberikan suplai ke tigaperlima bagian serebrum. Arteri karotis interna masuk ke dalam otak melalui sinus kavernosus dan bercabang menjadi arteri oftalmika, arteri komunikans posterior, arteri khoroidalis anterior, arteri serebri anterior, dan arteri serebri media. Arteri serebri media merupakan cabang arteri karotis interna yang paling besar dan memiliki 8 cabang di dalam otak yang memberikan suplai darah pada otak lobus parietalis, frontalis, dan temporalis yang luas. Sedangkan arteri serebri anterior memiliki 5 cabang yang memberikan suplai darah ke area korteks motorik dan sensorik primer yang luas dan girus cinguli. Jadi, area korteks somatosensorik dan motorik yang memiliki fungsi untuk gerakan volunter manusia, mendapatkan suplai darah terutama oleh arteri karotis interna

yang merupakan cabang dari a. karotis komunis (Bradac, 2011). Jadi, masing-masing pembuluh darah memberikan suplai darah ke daerah yang berbeda dalam serebrum. Ilustrasi pembagian area otak berdasarkan pembuluh darah yang memberikan suplai darah ke area tertentu dapat dilihat pada gambar 2.5.



Gambar 2.4 Pembuluh darah otak (Netter, 2010)



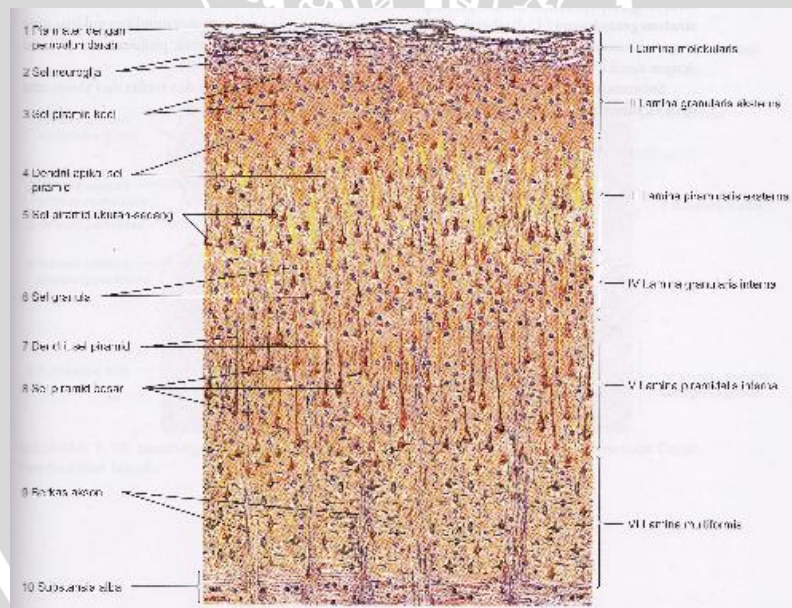
Gambar 2.5 Suplai arteri pada bagian otak (Sinauer Associates, 2002)

Seluruh pembuluh darah yang memberikan suplai darah ke otak memiliki banyak sistem kolateral. Sistem kolateral ini bertujuan agar otak tetap mendapatkan suplai oksigen dan nutrisi apabila salah satu pembuluh darahnya mengalami gangguan. Salah satu sistem kolateral tersebut adalah sirkulus arteriosus Willisii, yang merupakan pertemuan antara arteri besar dan arteri komunikans yang terletak di dasar otak (Hoksbergen *et al.*, 2000).

2.1.2 Histologi Otak

Korteks pada hemisfer otak memiliki 6 lapis yang secara mikroskopis dengan pengecatan Hematoxylin & Eosin (H&E) tidak dapat dibedakan (Robbins and Cotran, 2006). Akan tetapi dapat dibedakan dengan pengecatan impregnasi perak (metode Cajal). Gambaran 6 lapisan otak beserta komponennya dapat dilihat pada gambar 2.6. Lapisan yang pertama ialah lamina molekularis yang dilapisi oleh jaringan ikat otak yang halus, piamater. Bagian tepi lamina molekularis terdiri dari sel neuron yang tersusun horisontal. Lapisan kedua

adalah lamina granularis eksterna yang terdiri dari berbagai jenis sel neuroglia dan sel piramid kecil. Lapisan ketiga ialah lamina piramidalis eksterna di mana sel piramid yang berukuran sedang mendominasi di lapisan ini. Lapisan keempat ialah lamina granularis interna yang merupakan suatu lapisan tipis dan terdiri dari sel granular kecil, beberapa sel piramid, dan berbagai neuroglia yang membentuk hubungan yang kompleks dengan sel piramid. Lapisan kelima ialah lamina piramidalis interna, lapisan ini terdiri dari banyak sel neuroglia dan sel piramid terbesar. Lapisan yang terdalam ialah lamina multiformis, lamina ini terdiri dari campuran sel dalam berbagai bentuk dan ukuran seperti sel fusiforme, sel granula, sel stelata, dan sel martinotti (Eroschenko, 2008).



Gambar 2.6 Lapisan korteks serebri substansia grisea (Eroschenko, 2008)

Sistem saraf pusat terdiri dari sel saraf yaitu neuron dan sel penunjuang atau disebut juga sel glia. Neuron berfungsi untuk menjalankan impuls saraf sedangkan sel glia berfungsi untuk memberikan dukungan dan melindungi neuron. Neuron terdiri dari badan sel (perikarion) dan beberapa prosesus.

Prosesus pendek dan banyak yang berfungsi untuk menerima impuls saraf adalah dendrit. Sedangkan satu prosesus panjang yang berfungsi untuk melanjutkan impuls saraf ke neuron yang lain disebut akson (Brodal, 2010). Pada pengecatan dengan H&E akan tampak akson tipis yang muncul dari ruang kosong. Akson memiliki ukuran yang lebih panjang dan tipis dibandingkan dengan dendrit yang berukuran pendek dan tebal (Eroschenko, 2008).

Neuron memiliki kemampuan untuk merespon stimuli yang berupa impuls listrik. Sinyal tersebut dapat ditransmisikan untuk melewati jalur yang sangat panjang antara sistem saraf pusat dengan organ lain di tubuh hanya dalam beberapa milisekon saja. Apabila diamati secara makroskopis dan mikroskopis, saraf pusat terdiri dari substansia alba dan grisea. Substansia alba terdiri dari akson yang bermielin, sedangkan substansia grisea terdiri dari perikarion dan dendrit. Substansia alba berada di bagian dalam lapisan serebrum sedangkan substansia grisea terletak di bagian luar lapisan serebrum (Brodal, 2010).

Secara mikroskopis dengan pengecatan H&E neuron motorik normal (sel piramid), seperti pada nampak gambar 2.7, memiliki perikarion yang merupakan bagian yang terdiri dari nukleus dan sitoplasma. Nukleus neuron berukuran besar di tengah, bulat atau lonjong, dan berwarna terang (eukromatik) (Junqueira dan Carneiro, 2007), serta di dalamnya terdapat nukleolus yang prominen (Bloom dan Fawcett, 2002). Warna terang pada nucleus terjadi karena persebaran kromatin yang merata (Eroschenko, 2008). Sitoplasmanya mengandung organela, badan *Nissl*, dan unsur filamen dari sitoskeleton (mikrotubul, neurofilamen, dan mikrofilamen) (Bloom dan Fawcett, 2002).



Gambar 2.7 Neuron motorik korteks serebri (Seidman, 2011)

Aktifitas metabolisme yang tinggi dari neuron ditandai dengan banyaknya mitokondria pada sitoplasmanya. Selain itu, di dalam perikarion juga mengandung *free* ribosom, retikulum endoplasma kasar (rER) untuk sintesis protein, dan badan Golgi yang berfungsi untuk memodifikasi protein dan dikeluarkan ke membran sel. Protein permukaan ini memiliki peran yang esensial, yaitu sebagai kanal ion atau reseptor neurotransmitter. Selain itu badan Golgi juga berfungsi untuk membentuk lisosom dan membentuk membran dari vesikel sinaps. rER dan mitokondria dapat dijumpai pula dalam dendrit, namun rER tidak terdapat pada *axon hillock*, sedangkan mitokondria terbanyak terdapat pada *axon hillock*. Apabila dilihat dari mikroskop elektron, badan *Nissl* sebenarnya merupakan sisterna rER yang tersusun teratur secara paralel, yang tampak sebagai bentukan berwarna hitam di sitoplasma (Bloom dan Fawcett, 2002).

Untuk menyalurkan impuls saraf, satu neuron dengan neuron yang lainnya dihubungkan oleh area kontak khusus yang disebut sinaps (Brodal,

2010). Terdapat dua macam sinaps, yaitu sinaps listrik dan sinaps kimia. Sinaps kimia lebih banyak dan lebih umum dibandingkan sinaps listrik. Neuron presinaptik yang terstimulasi akan mengeluarkan neurotransmiternya lalu akan berikatan dengan reseptor yang berada di membran neuron postsinaptik. Setelah itu akan terjadi reaksi pada neuron postsinaptik tergantung dari jenis neurotransmiter dan reseptornya untuk menyalurkan impuls saraf tersebut, baik eksitasi maupun inhibisi (Bloom dan Fawcett, 2002).

Sel glia menempati lebih dari setengah bagian otak. Sel glia otak terdiri dari oligodendrosit, astrosit, sel ependim, dan mikroglia. Oligodendrosit memiliki peran dalam memproduksi selubung myelin untuk insulator listrik. Astrosit adalah sel glia terbanyak dan berbentuk bintang yang terdiri dari 2 tipe, yaitu fibrosa dan protoplasma. Astrosit berfungsi untuk menyangga struktur neuron, menjaga lingkungan ion dan kimia sekitar neuron, membantu proses pemulihan setelah kerusakan, membentuk *blood-brain barrier*, mengabsorpsi kelebihan neurotransmiter, dan membebaskan molekul metabolik dan neuroaktif. Sel ependim merupakan sel epitel pipih selapis yang melapisi ventrikel otak dan berfungsi untuk menghasilkan cairan serebrospinal. Mikroglia adalah sel kecil dengan cabang pendek yang bersifat fagositik, berperan dalam reaksi peradangan, dan perbaikan pada sistem saraf pusat orang dewasa (Junqueira dan Carneiro, 2007).

Pada pengecatan Hematoksilin Eosin yang perlu diperhatikan untuk mengidentifikasi neuron yang sehat ialah neuron motorik normal memiliki inti besar di tengah, jelas dan tercat terang, sebuah nukelolus yang gelap, padat, dan jelas dan sejumlah cabang sel yang disebut dendrit. Akson akan tampak lebih panjang dan tipis dan muncul dari ruang kosong, dendrit yang lebih pendek

dan tebal. Sitoplasma tampak memiliki granula kasar (Badan Nissl). Selain neuron akan tampak inti neuroglia yang tercat jelas, sedangkan sitoplasmanya tidak terwarnai (Eroschenko, 2008).

2.2 Stroke

Stroke merupakan suatu keadaan atau penyakit di mana permasalahan utama terletak pada pembuluh darah baik yang menuju maupun di dalam otak. Stroke terjadi ketika pembuluh darah yang membawa oksigen dan nutrisi menuju otak mengalami penyumbatan karena berbagai sumbatan atau pembuluh darah tersebut pecah. Ketika hal itu terjadi, bagian dari otak yang disuplai oleh pembuluh darah tersebut tidak akan mendapatkan suplai oksigen dan nutrisi yang adekuat, sehingga sel otak akan mengalami kerusakan, bahkan kematian (American Stroke Association, 2012).

Menurut data WHO (World Health Organization), di dunia terdapat 30,7 juta orang menderita stroke (World Health Organization, 2011). Setiap tahunnya, 134.000 kematian di dunia disebabkan karena stroke (Lloyd-Jones *et al.*, 2010). Menurut ASA (*American Stroke Association*), 1 dari tiap 18 kematian di dunia disebabkan oleh karena stroke. Selain itu, ASA juga menyebutkan bahwa terdapat 1 orang meninggal akibat stroke setiap 4 menit (American Stroke Association, 2012). Di Indonesia, penyakit stroke merupakan penyebab kematian pertama, dengan prosentase sebesar 15,4% dari seluruh kematian (Risikesdas, 2007). Dari 15 juta penderita stroke setiap tahunnya, 5 juta diantaranya akan kembali sehat, sedangkan 5 juta diantaranya akan hidup dengan kecacatan permanen, dan 5 juta diantaranya akan meninggal dunia (Yayasan Stroke Indonesia, 2011).

Terdapat 2 macam stroke, yaitu stroke penyumbatan (iskemik) dan perdarahan (hemoragik). Stroke iskemik terjadi sebagai akibat dari adanya obstruksi di dalam pembuluh darah yang menyuplai darah ke otak. Kondisi yang mendasari adalah adanya deposit lemak di dinding pembuluh darah yang dapat berupa trombus ataupun embolus. Sedangkan stroke hemoragik terjadi akibat adanya dinding pembuluh darah yang lemah lalu pecah dan terjadi perdarahan di sekitar otak. Darah terkumpul dan menekan jaringan otak. Terdapat 2 tipe stroke hemoragik, yaitu *intracerebral hemorrhage* dan *subarachnoid hemorrhage*. Penyebab stroke hemoragik tersering adalah pecahnya aneurisma dan adanya *arteriovenous malformation (AVM)* (American Stroke Association, 2013).

2.2.1 Stroke Iskemik

Dari seluruh kejadian stroke, 87% disebabkan oleh karena stroke iskemik, dan hanya 13% saja yang disebabkan karena stroke hemoragik (Roger, *et al.*, 2012). Stroke iskemik adalah tanda klinis disfungsi atau kerusakan jaringan otak yang disebabkan kurangnya aliran darah ke otak sehingga mengganggu kebutuhan darah dan oksigen di jaringan otak (Sjahrir, 2003).

Etiologi dari stroke iskemik dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok besar, yaitu permasalahan pada pembuluh darah, darah, dan jantung (Dongoran, 2007). Macam-macam etiologi stroke iskemik disebutkan pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Etiologi stroke iskemik

Kelainan Pembuluh Darah	Kelainan Jantung	Kelainan Darah
Aterosklerosis	Trombus mural	Trombositosis
Displasia fibromuskuler	Penyakit jantung rematik	Polisitemia
Gangguan inflamasi <ul style="list-style-type: none"> - Arteritis sel giant - SLE - Polyarteritis nodosa - Granulomatous angiitis - Syphilitic arteritis - AIDS 	Aritmia <ul style="list-style-type: none"> - <i>Atrial fibrillation</i> - <i>Sinoatrial disorder</i> 	Penyakit sickle cell
Diseksi arteri karotis atau vertebralis	Endokarditis	Leukositosis
Infark lakuner	<i>Mitral Valve Prolaps (MVP)</i>	Status hiperkoagulasi
Drug abuse	Paradoxic embolus	
Migrain	Atrial myxoma	
Sindrom moyamoya	<i>Prosthetic heart valves</i>	
Trombosis sinus atau vena	Acute Myocard Infarct	

(Dongoran, 2007)

AMI dan *atrial fibrillation* (AF) dapat berkembang menjadi stroke karena adanya embolus dari jantung yang lepas ke peredaran darah menuju ke pembuluh darah otak. Penyakit jantung rematik yang menyebabkan stenosis katup mitral juga berhubungan erat dengan kejadian tromboembolisme. Pasien dengan MVP, apabila dilakukan otopsi, memiliki deposit fibrinous pada katup jantung atau dapat pula ditemukan *annular thrombus*. Pemakai katup jantung buatan juga memiliki insiden tinggi untuk berkembang menjadi AF dan tromboembolisme (Mohr *et al.*, 1997).

Kejadian aterosklerosis terbanyak mengenai a. karotis pada bagian bifurkasio dan segmen pertama a. serebri media. Selain itu aterosklerosis juga sering ditemukan pada segmen pertama dan keempat dari a. vertebralis dan a. basilaris. Vaskulitis pada pembuluh darah otak yang disebabkan karena berbagai penyakit dasar, dapat pula menyebabkan stroke melalui beberapa mekanisme.

Vaskulitis dapat menimbulkan *necrotizing vasculitis*, *hypercoagulable state*, *artery-to-artery* atau *cardiac embolism*. Kelainan homeostasis juga dapat menyebabkan stroke iskemik. Adanya *prothrombic states* yang disebabkan karena abnormalitas beberapa protein regulator, termasuk antitrombin, heparin kofaktor II, protein C, protein S, dan gangguan sistem fibrinolitik, dapat meningkatkan episode trombotik pada dekade 2 dan 3 kehidupan dan berhubungan erat dengan kejadian stroke iskemik di kemudian hari (Mohr *et al.*, 1997).

Faktor resiko dari stroke iskemik dapat diklasifikasikan menjadi *non-modifiable risk factor* dan *modifiable risk factor* (Goldstein *et al.*, 2011).

1. *Non-modifiable risk factor*

- a. Usia
- b. Jenis kelamin
- c. *Low Birth Weight*
- d. Ras atau etnik
- e. Faktor genetik

2. *Well documented modifiable risk factor*

- a. Hipertensi
- b. Merokok
- c. Diabetes
- d. Dislipidemia
- e. Terapi hormonal pasca menopause
- f. Penggunaan kontrasepsi oral
- g. Diet tinggi natrium dan rendah kalium
- h. Inaktivitas

- i. Obesitas
3. *Less well-documented modifiable risk factor*
 - a. Sindroma metabolic
 - b. Konsumsi alkohol ≥ 5 gelas perhari
 - c. Migrain dengan aura
 - d. *Sleep-disorder breathing*
 - e. Hiperhomosisteinemia
 - f. Peningkatan Lp(a)
 - g. Peningkatan *lipoprotein-associated phospholipase*
 - h. Inflamasi
 - i. Infeksi

2.2.2 Terapi Stroke Iskemik

Obat-obatan yang selama ini digunakan untuk mengobati stroke iskemik adalah antiplatelet, trombolitik, dan antikoagulan. Obat antiplatelet yang sering digunakan adalah aspirin. Aspirin dalam dosis rendah dapat membantu memulihkan pasien dari *Transient Ischemic Attack (TIA)*, namun tidak dapat menurunkan keseluruhan insiden stroke atau memperbaiki proses penyembuhan karena stroke. Selain itu tidak ada perbedaan signifikansi terhadap keseluruhan insiden stroke antara sampel dengan aspirin 100mg setiap hari dengan sampel yang diberi plasebo (Rist, 2013).

Ada pula penelitian yang melihat perkembangan 23 sampel pasien stroke yang diberikan terapi alteplase secara i.v. Hasilnya, didapatkan 6 pasien (26.09%) mengalami berbagai komplikasi. 4 orang (17.39%) diantaranya mengalami perdarahan otak, 1 orang (4.35%) mengalami orolingual angioedema, dan 1 (4.35%) orang lagi mengalami hematoma di lengan kanan. Setelah selesai

pengobatan, 3 pasien akhirnya meninggal terutama karena perdarahan otak (Yayan, 2012).

Terapi lain berupa antikoagulan secara i.v. yang sering diberikan dokter kepada pasien stroke iskemik untuk mencegah stroke rekuren. Namun obat ini tidak dapat memperbaiki proses penyembuhan stroke. Selain itu, fungsi obat ini dalam pencegahan stroke rekuren tidak seimbang dengan peningkatan resiko perdarahan otak yang ditimbulkannya (Moonish dan Fisher, 2002).

Stroke iskemik disebabkan oleh karena adanya sumbatan pada pembuluh darah. Obat-obatan yang selama ini digunakan memang bertujuan untuk menghancurkan sumbatan tersebut, mencegah supaya sumbatan tersebut tidak semakin besar dan semakin menyumbat, dan mencegah timbulnya sumbatan baru. Namun tidak bisa dipungkiri kalau efek samping yang ditimbulkanpun juga sangat mengkhawatirkan. Di mana efek samping tersebut malah dapat menyebabkan kematian pada pasien, sebagai contoh pperdarahan otak yang timbul setelah pemberian heparin i.v. Dengan kata lain, masih belum ada pengobatan stroke iskemik yang ideal. Belum ada obat yang dapat meregenerasi neuron yang rusak akibat iskemik tersebut dan tanpa efek samping.

2.2.3 Patofisiologi Stroke Iskemik

Berkurangnya aliran darah ke otak menyebabkan hipoksemia di sebagian otak yang selanjutnya akan menimbulkan reaksi berantai dan dapat menyebabkan kematian neuron. Secara umum daerah iskemik otak terdiri dari bagian *core* dan *penumbra*. *Core* merupakan daerah pusat iskemik yang berada di tengah dengan tingkat iskemik terberat. Di sekeliling *core* terdapat daerah *penumbra* iskemik dengan tingkat iskemik yang lebih rendah. Semakin ke perifer,

tingkat iskemiknya akan semakin ringan. Di luar daerah penumbra terdapat daerah hiperemik sebagai akibat dari peningkatan aliran darah kolateral (*luxury perfusion area*) (Sjahrir, 2003). Reversibilitas neuron otak yang mengalami iskemik ini tergantung pada penatalaksanaan dan waktu penanganannya.

Iskemik otak menyebabkan berbagai perubahan sel neuron yang terjadi dalam 4 tahapan, yaitu (Sjahrir, 2003):

Tahap 1 :

- a. Penurunan aliran darah
- b. Pengurangan O₂
- c. Kegagalan energi
- d. Terminal depolarisasi dan kegagalan homeostasis ion

Tahap 2 :

- a. Eksitotoksikitas dan kegagalan homeostasis ion
- b. *Spreading depression*

Tahap 3 : Inflamasi

Tahap 4 : Apoptosis

Setelah otak mengalami kekurangan oksigen dan glukosa, sel otak akan mengalami gangguan metabolisme seluler karena gangguan pada produksi energi. Pada percobaan dengan tikus, otak mengalami perubahan respon metabolik terhadap gangguan hemodinamik secara bertahap yang disebut *critical level* berdasarkan beratnya oklusi. Pada tahap kritikal pertama, suplai darah menurun hingga 70-80% dan mengakibatkan terganggunya sintesa protein akibat degenerasi ribosom. Tahap kritikal kedua apabila suplai darah menurun 50%, maka akan terjadi metabolisme anaerob dan peningkatan kadar laktat dalam darah. Tahap kritikal ketiga terjadi bila suplai darah hanya sebesar 30%

dari normal, maka akan terjadi pengurangan produksi ATP, defisit energi, gangguan transport aktif ion, instabilitas membran sel, dan pelepasan neurotransmitter eksitasi yang berlebihan. Saat otak hanya menerima 20% suplai darah, otak akan kehilangan gradien ion dan mengalami depolarisasi anoksik. Tahap akhir adalah apabila otak menerima suplai darah kurang dari 10 ml/ 100 gram jaringan otak, akan terjadi terbentuk *core* iskemik (Dongoran, 2007).

2.2.4 Patofisiologi Seluler Neuron Otak Setelah Stroke Iskemik

Otak merupakan organ yang sangat bergantung pada oksigen dan glukosa. Gangguan pada sirkulasi otak dapat mengakibatkan kekurangan oksigen dan glukosa dalam waktu singkat dan menyebabkan kekurangan energi. Hasil dari peristiwa ini disebut sebagai *hypoxic-ischemic state*. Peristiwa ini akan merusak struktur serta fungsi otak (Mergenthaler *et al.*, 2004). Mekanisme yang dapat menyebabkan kerusakan ini meliputi eksitotoksisitas yang diinduksi oleh glutamat, produksi radikal bebas, disfungsi mitokondria, inflamasi dan *program cell death* (apoptosis) (Breton dan Rodriguez, 2012).

Setelah terjadi stroke iskemik, otak mengalami kekurangan glukosa dan oksigen. Hal ini mengakibatkan terjadinya gangguan fosforilasi oksidatif oleh mitokondria dan menurunnya produksi *adenosine triphosphate* (ATP) secara cepat. Menurunnya ATP juga menginduksi metabolisme glikolitik dan merusak glukosa dan glikogen residual, yang kemudian mengakibatkan akumulasi proton dan laktat yang mengakibatkan asidifikasi intraseluler sehingga semakin menurunkan ATP (Breton dan Rodriguez, 2012). Akumulasi dari asam laktat bersifat neurotoksik dan menyebabkan inflamasi sel. Inflamasi ini meningkatkan leukosit, pengeluaran radikal bebas, dan leukotrien yang selanjutnya akan meningkatkan inflamasi, serta menuju pada kerusakan membran sel dan

kerusakan sawar darah otak serta terjadinya edema (Beauchamp dan Bryan, 1998).

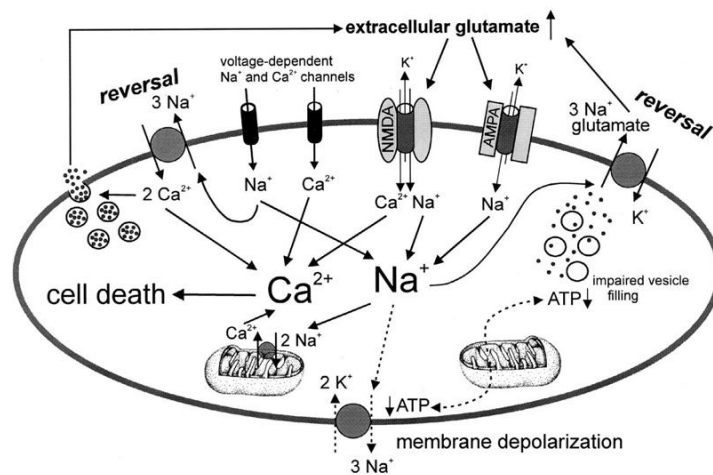
Dalam keadaan ATP yang rendah Na^+/K^+ -ATPase tidak dapat bekerja. Keadaan ini mengakibatkan masuknya Na^+ dan Ca^{2+} ke intraseluler dan keluarnya K^+ ke ekstraseluler sehingga terjadinya membran depolarisasi neuron dan astroglia. Dampak dari depolarisasi ini terjadi pengeluaran glutamat ke ekstraseluler dalam jumlah banyak. Secara bersamaan *reuptake* neurotransmitter dari ekstraseluler juga akan berkurang (Breton dan Rodriguez, 2012).

Glutamat merupakan *dicarboxylic amino acid*, yang membutuhkan ATP untuk menginisiasi *reuptake* setelah dikeluarkan oleh sel. Selama keadaan iskemik, ATP mengalami penurunan sehingga *reuptake* glutamat terganggu dan mengakibatkan akumulasi glutamat di ekstraseluler (Lo *et al*, 2005). Dalam keadaan fisiologis, transportasi glutamat diperankan oleh astrosit. Depolarisasi dari astrosit mengakibatkan pembengkakan astrosit sehingga astrosit yang seharusnya berperan dalam pengambilan glutamat pada akhirnya akan mengakibatkan pelepasan glutamat (*reversed uptake*). Selain itu, gangguan metabolisme energi di mana terjadi penurunan ATP juga akan mempengaruhi transportasi glutamat normal dalam astrosit. Pada akhirnya terjadi penurunan penyerapan atau uptake glutamat oleh astrosit. Bersama-sama, proses ini menyebabkan peningkatan kadar glutamat ekstraseluler (Hazell, 2007).

Pada daerah iskemik, kandungan glutamat dapat meningkat hingga 80 kali lipat dari nilai basalnya. Sedangkan pada daerah penumbra juga terjadi peningkatan walaupun tidak sebesar yang terjadi di zona iskemik (Castillo *et al.*, 1996). Sebelumnya peningkatan glutamat dianggap sebagian peningkatan sementara (1-2 jam), akan tetapi pada penelitian lebih lanjut yang dilakukan pada

manusia didapatkan peningkatan sampai 4 hari setelah kejadian iskemik (Davallos *et al.*, 1997).

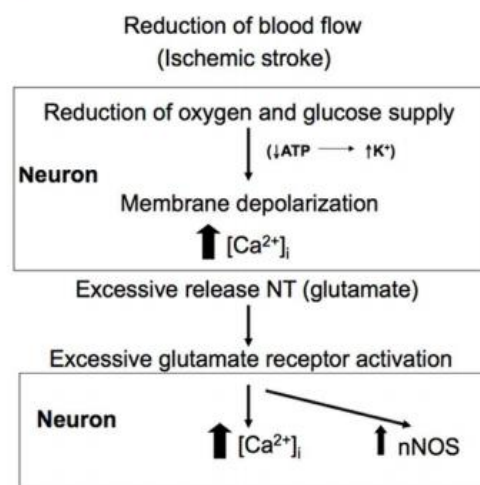
Glutamat kemudian akan berikatan dengan reseptornya. (Lo *et al.*, 2005). Glutamat menstimulasi reseptor *N-methyl-D-aspartate* (NMDA) subunit NR2C dan NR2D, *alpha-amino-3-hydroxy-5methyl-4-isoxazolepropionic acid* (AMPA), dan *kainite-type glutamat receptor* secara berlebihan. Reseptor ini mengakibatkan influks Na^+ , Ca^{2+} dan efluks K^+ . Reseptor NMDA membantu influks Na^+ mengakibatkan depolarisasi secara terus menerus. Reseptor NMDA sangat permeabel terhadap Ca^{2+} sehingga dapat memasukan Ca^{2+} dalam jumlah banyak (Lee *et al.*, 2000; Lynch dan Guttman, 2002). Reseptor glutamat (reseptor NMDA) pada keadaan fisiologis dapat dapat diblok dengan Mg^{2+} pada saat hiperpolarisasi (Zito K and Scheuss V , 2009). Keseluruhan proses ini digambarkan dalam skema yang tampak pada gambar 2.8.



Gambar 2.8 Proses yang terjadi setelah stroke iskemik (Alzheimer, 2002)

Aktivasi reseptor NMDA yang berlebihan mengakibatkan rusaknya keseimbangan Ca^{2+} sehingga terjadilah influks Ca^{2+} yang berlebihan dan meningkatnya nNOS. Untuk mengeluarkan Ca^{2+} yang masuk ke intrasel

dibutuhkan peran ATP untuk mengaktivasi pompa Ca^{2+} (Kristian dan Siesjo, 1998). ATP ini tidak tersedia dalam keadaan anoksia pada daerah iskemik (Lo *et al.*, 2005). Masuknya Ca^{2+} yang berlebihan akan memunculkan radikal bebas dan aktivasi permeabilitas mitokondria (disfungsi mitokondrial) dan eksitotoksisitas sekunder. Proses ini dijelaskan dalam skema pada gambar 2.9.



Gambar 2.9 Eksitotoksisitas pada stroke iskemik (Breton dan Rodriguez, 2012)

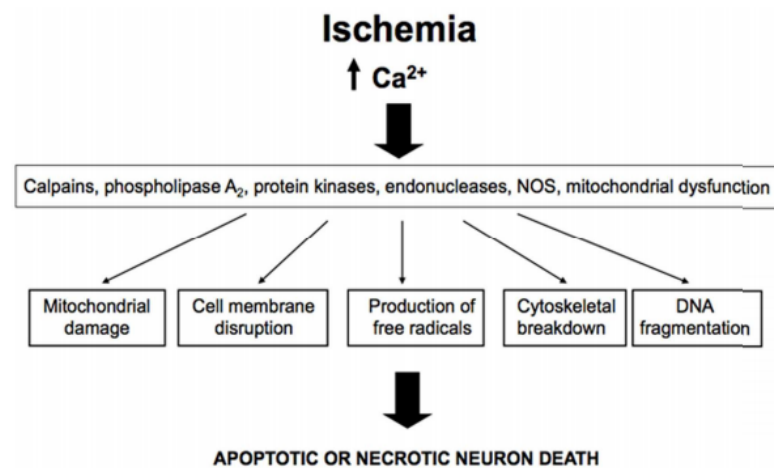
Radikal bebas yang terlibat dalam mengakibatkan proses kerusakan sel neuron otak antara lain ialah *nitric oxide* (NO), *superoxide* (O^{2-}), *hydrogen peroxide* (H_2O_2), dan *hydroxyl* (-OH) (Nakka *et al.*, 2008). Kerusakan sel terjadi akibat dari ketidakseimbangan antara oksidan dan anti oksidan endogen seperti SOD, *glutathione peroxidase*, *catalase*, dan vitamin antioksidan (Yamamoto *et al.*, 2002). Aktivasi nNOS oleh reseptor NMDA mengakibatkan produksi NO yang berlebihan. NO merupakan substrat untuk produksi radikal bebas yang sangat reaktif dan dapat mengakibatkan kerusakan sel dan kematian neuron (Breton dan Rodriguez, 2012). NO yang dihasilkan dapat dengan bebas berdifusi dan melintasi sel membran serta bereaksi dengan O^{2-} dan membentuk peroksinitrit

(ONOO⁻) (Hayden dan Tyagi, 2002). Keseluruhan peristiwa ini disebut eksitotoksikitas (Breton dan Rodriguez, 2012).

Aktivasi *nuclear enzyme* seperti protein kinase C, *Ca Calmodulin/dependent protein kinase II*, fosfolipase, nNOS, endonuklease dan ornitin dekarboksilase oleh reseptor NMDA (Gofir A, 2009) pada akhirnya akan mengaktifkan overproduksi radikal bebas, disfungsi mitokondria, rusaknya sel membran, dan fragmentasi DNA yang mengakibatkan kematian neuron (apoptosis) (Breton dan Rodriguez, 2012). Hasil dari akumulasi Ca^{2+} ini digambarkan pada skema pada gambar 2.10.

Apoptosis merupakan bentuk dari *programmed cell death* yang mengakibatkan kematian sel neuron. Apoptosis dikontrol oleh mitokondria yang bertanggung jawab terhadap pergerakan protein melewati membran mitokondria. Jalur apoptosis dibagi menjadi jalur intrinsik dan ekstrinsik (Mohr J, 2004; Nakka *et al.*, 2008). Caspase memegang peranan penting dalam proses apoptosis. Caspase yang bertanggung jawab pada terjadinya apoptosis ialah caspase 3 dan caspase 9 (Lo *et al.*, 2003). Caspase 9 bertanggung jawab dalam memicu caspase 3, yang apabila teraktivasi dapat mendegradasi protein sel dan menghasilkan aktivitas *internucleosomal endonuclease* dan fragmentasi DNA. Caspase juga memecah homeostasis, sitoskeletal, perbaikan DNA, metabolisme dan protein *signaling cell* yang kemudian semua itu akan menyebabkan apoptosis (Lo *et al.*, 2003; Broughton *et al.*, 2009). Famili Bcl merupakan protein yang memiliki peran yang penting terhadap apoptosis intraselular. Protein ini terdiri atas antiapoptosis (Bcl-2, Bcl-xl, dan Bcl-w) dan proapoptosis (Bax, Bak, dan bad) (Nakka *et al.*, 2008). Antiapoptosis terletak di luar membran mitokondria sedangkan proapoptosis dapat masuk ke dalam mitokondria. Saat terjadi sinyal

intrinsik, terjadi translokasi pro-apoptosis famili Bcl seperti Bax ke dalam mitokondria yang kemudian akan mengeluarkan *cytochrome c*. *Cytochrome c* mampu berikatan dengan *Apaf-1* dan membentuk apoptosome. Apoptosome memiliki kemampuan mengaktifkan procaspase 9 yang kemudian mengaktifkan caspase 3 dan terjadilah apoptosis (Lotocki dan Keane, 2002).

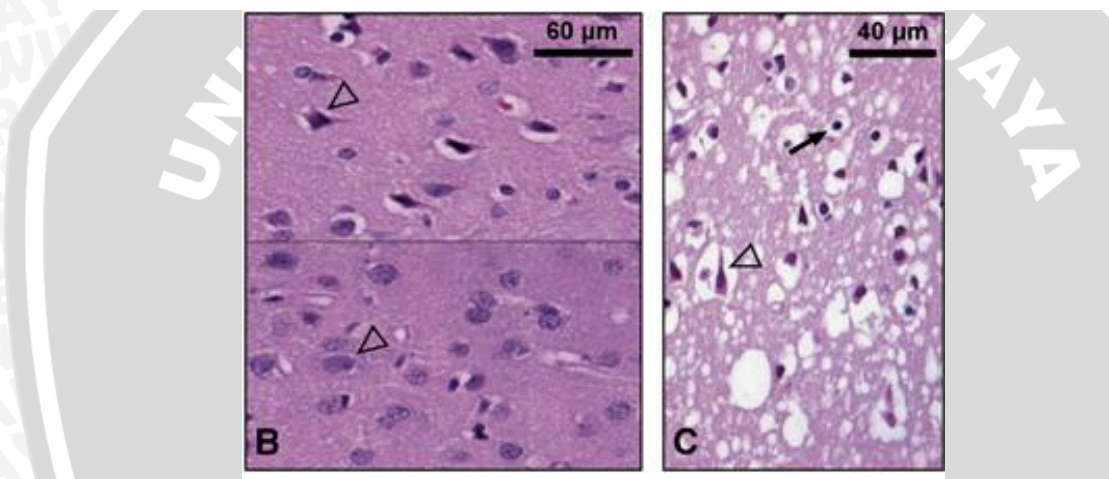


Gambar 2.10 Efek akumulasi ion Ca di neuron setelah iskemik (Breton dan Rodriguez, 2012)

2.2.5 Morfologi Kerusakan Neuron

Seluruh mekanisme kerusakan yang terjadi akibat iskemik yang meliputi eksitotoksikitas, produksi radikal bebas, disfungsi mitokondria, inflamasi dan *program cell death* (apoptosis) bertanggung jawab dalam kerusakan neuron. Pada pengecatan H&E, sel saraf yang mengalami kerusakan akibat iskemik akan memperlihatkan gambaran berupa *eosinophilic neurons* dan *red dead neurons*. Morfologi sel saraf yang rusak dapat dilihat pada gambar 2.12. Karakteristik dan gambaran klasik ditandai dengan perikarion yang mengalami pengkerutan, nukelus yang mengalami piknosis dan berwarna gelap, dan *eosinophilic cytoplasm* yaitu sitoplasma menjadi berwarna merah dalam pengecatan tampak pada gambar 2.11 B panah atas. Perubahan-perubahan ini seringkali disertai

dengan adanya vakuolisasi jaringan akibat kerusakan neuron (Zille *et al.*, 2012). Gambaran ini sangat berbeda dengan gambaran neuron sehat yang memperlihatkan gambaran sel saraf berupa bintang dengan nukleus yang besar, terletak di tengah, jelas, eukromatin dan tercat terang karena sebaran kromatin merata, serta sebuah nukelolus yang gelap, padat, dan jelas tampak pada gambar 2.11 C panah segitiga (Junqueira dan Carneiro, 2007; Eroschenko, 2008).



Gambar 2.11 Morfologi sel neuron yang rusak setelah MCAO (Zille *et al.*, 2012)

Morfologi kerusakan neuron ini merupakan hasil dari apoptosis yang terjadi karena mekanisme kerusakan akibat stroke iskemik. Pada awal apoptosis, sel akan mengalami pengkerutan sehingga ukurannya akan tampak lebih kecil dari ukuran normalnya. Mengecilnya ukuran neuron ini akan menyebabkan terbentuknya jarak antara neuron yang mengalami apoptosis dengan jaringan ikat di sekitarnya, sehingga akan tampak daerah berwarna putih yang disebut vakuolisasi. Selain itu, sitoplasma dan organela-organela dalam neuron akan mengalami pepadatan, sehingga akan tampak gambaran *eosinophilic cytoplasm* pada gambaran mikroskopis yang dicat dengan teknik H&E. Nukleus

yang pada keadaan normal tampak jernih, pada gambaran neuron yang rusak akan mengalami piknosis yang merupakan hasil dari kondensasi kromatin akibat dari kerusakan yang terjadi. Pada pengecatan Hematoksin dan Eosin dapat diperhatikan adanya perubahan pada neuron yang rusak berupa mengecilnya ukuran neuron, adanya daerah putih di sekitar neuron, sitoplasma yang tampak berwarna gelap, dan nukleus yang berwarna keunguan serta sangat padat (Elmore, 2007).

2.2.6 Edema Otak

Terdapat 2 mekanisme edema otak yaitu edema vasogenik dan sitotoksik. Edema sitotoksik disebut juga edema intraselular. Mekanisme yang terjadi setelah stroke iskemik (eksitotoksikitas) turut berperan pada terjadinya edema otak. Pelepasan glutamat menyebabkan semakin meningkatnya influk Ca^{2+} dan Na^+ intraseluler. Hal ini menyebabkan terbentuknya suatu gradien osmosis dan meningkatnya jumlah air yang masuk ke dalam sel. Proses iskemik mengakibatkan berkurangnya ATP sehingga terjadi kerusakan Na^+/K^+ -ATPase. Na^+/K^+ -ATPase memiliki fungsi yang sangat penting yaitu mengeluarkan Na^+ yang masuk ke dalam sel. Apabila mengalami kerusakan, maka Na^+ akan terperangkap di dalam sel dan K^+ tidak dapat keluar (Jha, 2003; Kaal dan Vecht, 2004). Masuknya ion Na^+ juga berperan dalam masuknya ion Cl^- melalui kanal klorida, serta peningkatan osmolaritas intraseluler yang mendorong masuknya air dari ekstraseluler melalui saluran *aquaporin* (AQP) (Liang *et al.*, 2007). Hal ini mengakibatkan akumulasi air di dalam sel.

Transportasi air melintasi membran sel terjadi secara pasif. Molekul air dapat larut dalam *lipid bilayers* dan melintasi membran melalui difusi sederhana. Akan tetapi, mekanisme ini tidak efisien, sehingga membran plasma sel-sel

tertentu mengembangkan saluran air khusus yang disebut saluran AQP yang berfungsi sebagai saluran pasif air. Saluran ini meningkatkan permeabilitas membran terhadap air. Ada 13 jenis saluran AQP, dan yang paling banyak ada di otak ialah AQP 4. AQP 4 sebagian besar diekspresikan dalam astrocytic foot processes di sekitar pembuluh darah (Liang *et al.*, 2007) Hal ini dilakukan untuk mempertahankan keseimbangan osmosis. Mekanisme ini mengakibatkan edema intraselular atau disebut edema sitotoksik (Jha, 2003; Kaal and Vecht, 2004).

Ca^{2+} yang terakumulasi di dalam sel mengaktifkan intraselular sitotoksik dengan berinteraksi dengan NMDA dan kemudian akan mengaktifkan pelepasan radikal bebas yang menyerang membran sel dan kapiler. Konsentrasi Ca^{2+} intraseluler diatur oleh mitokondria. Terjadinya akumulasi Ca^{2+} ini menandakan adanya disfungsi mitokondria. Meskipun mitokondria merupakan sumber utama radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) seperti O_2^- (radikal superoksida) ada banyak pula enzim-enzim yang secara primer atau sekunder meningkatkan ROS pada sistem saraf pusat. Enzim yang bergantung pada Ca^{2+} mengkonversi *xanthine dehidrogenase* menjadi *xanthine oksidase* yang mengakibatkan peningkatan O_2^- dan H_2O_2 . Influx kalsium juga dapat mengaktifkan enzim fosfolipase A2 (PLA2) yang mengakibatkan produksi asam arakidonat yang akan ditransformasi oleh *cyclooxygenase* dan meningkatkan pembentukan O_2^- . Radikal bebas seperti *superoxide*, *hydrogen peroxide*, dan *ion hydroxyl* yang diproduksi oleh kaskade asam arakidonat memperparah kerusakan membran sel otak (Jha, 2003).

Peningkatan radikal bebas dapat mengakibatkan kerusakan sel endotel dari sawar darah otak dan membentuk edema vasogenik (Rosenberg, 2012). Akibat dari sawar darah otak yang rusak atau tidak kompeten terjadi influx

cairan dan *solute* ke dalam otak sehingga terjadi penumpukkan cairan di ekstraseluler. Edema vasogenik merupakan mekanisme edema otak yang paling sering dan terjadi di *grey matter* (Kaal and Vecht, 2004). Hal ini merupakan akibat dari meningkatnya permeabilitas sel endotel sehingga protein dan air dari intravaskular keluar melalui dinding kapiler menuju ke ekstraseluler (Jha, 2003; Bardutzky dan Schwab, 2007).

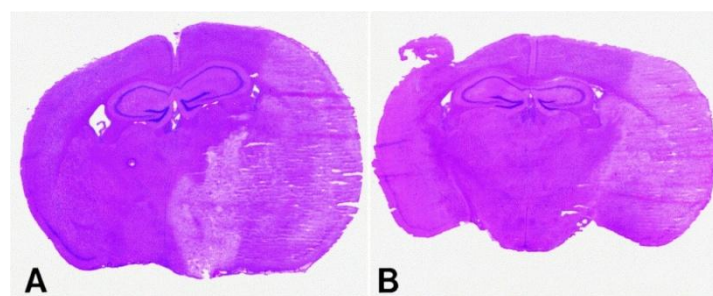
2.2.6.1 Volume Infark

Volume infark merupakan salah satu cara untuk memperhitungkan luasnya kerusakan dari iskemik otak. Keakuratan dari perhitungan volume infark ini ditentukan oleh edema otak post iskemik. Teng-Nan, pada percobaannya yang menghubungkan efek edema otak pada volume infark membuktikan ada hubungan antara luas edema otak dengan volume infark otak. Pada penelitiannya ini, ia menggunakan 2 cara perhitungan yaitu metode direk dan indirek. Pada metode direk, area infark yang tercatat oleh *tetrazolium chloride* (TTC) maupun H&E dihitung dengan *image analyzer*. Sedangkan cara indirek menggunakan rumus $RI=LT-RN$, dimana RI adalah volume infark yang tampak pada hemisfer kanan, LT adalah total volume korteks di hemisfer kiri, dan RN adalah daerah non infark di hemisfer kanan. Hasil yang didapatkan ialah bahwa dengan perhitungan direk menunjukkan bahwa volume infark yang menunjukkan peningkatan pada 24 jam dan kemudian menurun 1 minggu kemudian. Perubahan volume infark menunjukkan fluktuasi pola yang mengikuti evolusi edema otak. Perhitungan infark volume dengan cara indirek pun juga menunjukkan perubahan volume infark yang signifikan. Hal ini membuktikan bahwa infark volume dapat digunakan sebagai indikator untuk menilai seberapa luas kerusakan otak yang terjadi akibat brain iskemik melalui mekanisme edema

otak. Penelitian ini juga membandingkan metode pengecatan yang dipakai, yaitu menggunakan TTC dan H&E. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil volume infark pada pewarnaan TTC ataupun dengan HE pada hari pertama dan ketiga post infark. Sehingga metode pengecatan dengan TTC maupun HE mampu menggambarkan volume kerusakan yang diakibatkan stroke iskemik (Lin, *et al.*, 1993).

2.2.6.2 Perubahan Gambaran Volume Infark

Terdapat berbagai metode untuk menghitung volume infark antara lain ialah *computed tomographic (CT) scan*, *magnetic resonance Imaging (MRI)*, menggunakan mikroskopis dengan pengecatan TTC, H&E, dan *nissl staining* (Lyden *et al.*, 1994; Kwoon *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 1993; Wang *et al.*, 2010). Pada pewarnaan H&E, daerah infark akan tampak berwarna merah muda pucat seperti yang tampak pada gambar 2.12. Hal ini berbeda dengan gambaran otak yang tidak mengalami kerusakan yaitu merah muda dan merata (Brint, *et al.*, 1988).



Gambar 2.12 Potongan otak yang mengalami iskemik dengan pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (Lefkowitz *et al.*, 1998)

2.2.7 Perubahan Fungsi setelah Stroke

Stroke mengakibatkan terjadinya gejala-gejala neurologis focal maupun global. Gejala neurologis merupakan gejala yang muncul akibat gangguan di

daerah yang terlokalisir dan dapat diidentifikasi. Gejala neurologis fokal meliputi gejala motorik, gangguan berbicara, gangguan sensorik, gangguan visual, gangguan vestibular, dan gejala kognitif. Sedangkan gangguan neurologis global atau non fokal tidak selalu berkaitan dengan insiden stroke (Gofir, 2009). Macam-macam gejala ini akan dijelaskan pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Gangguan Neurologis Fokal dan Global Akibat Stroke

Gejala neurologis fokal	Gejala neurologis global
<p>Gejala motorik</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kelemahan tubuh satu sisi (hemiparesis, monoparesis, atau mengenai tangan saja) • Kelumpuhan kedua sisi (simultan) • Gangguan menelan • Gangguan Keseimbangan Tubuh <p>Gangguan berbicara dan bahasa</p> <ul style="list-style-type: none"> • Kesulitan pemahaman atau ekspresi berbahasa • Kesulitan membaca (<i>dyslexia</i>) atau menulis • Kesulitan menghitung <p>Gejala Sensorik</p> <ul style="list-style-type: none"> • Perubahan kemampuan sensorik tubuh satu sisi (keseluruhan atau sebagian) <p>Gejala visual</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gangguan penglihatan • Pandangan ganda <p>Gejala Vestibular</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vertigo <p>Gejala Kognitif</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gangguan memori • Gangguan aktivitas sehari-hari 	<ul style="list-style-type: none"> • Kelumpuhan seluruh tubuh dan atau gangguan sensorik • <i>Light headedness</i> • Pingsan • <i>Blackouts</i> dengan gangguan kesadaran • Inkontinensia urin maupun feses • Bingung • Tinnitus

(Gofir, 2009)

2.2.7.1 Mekanisme Perubahan Fungsi Motorik

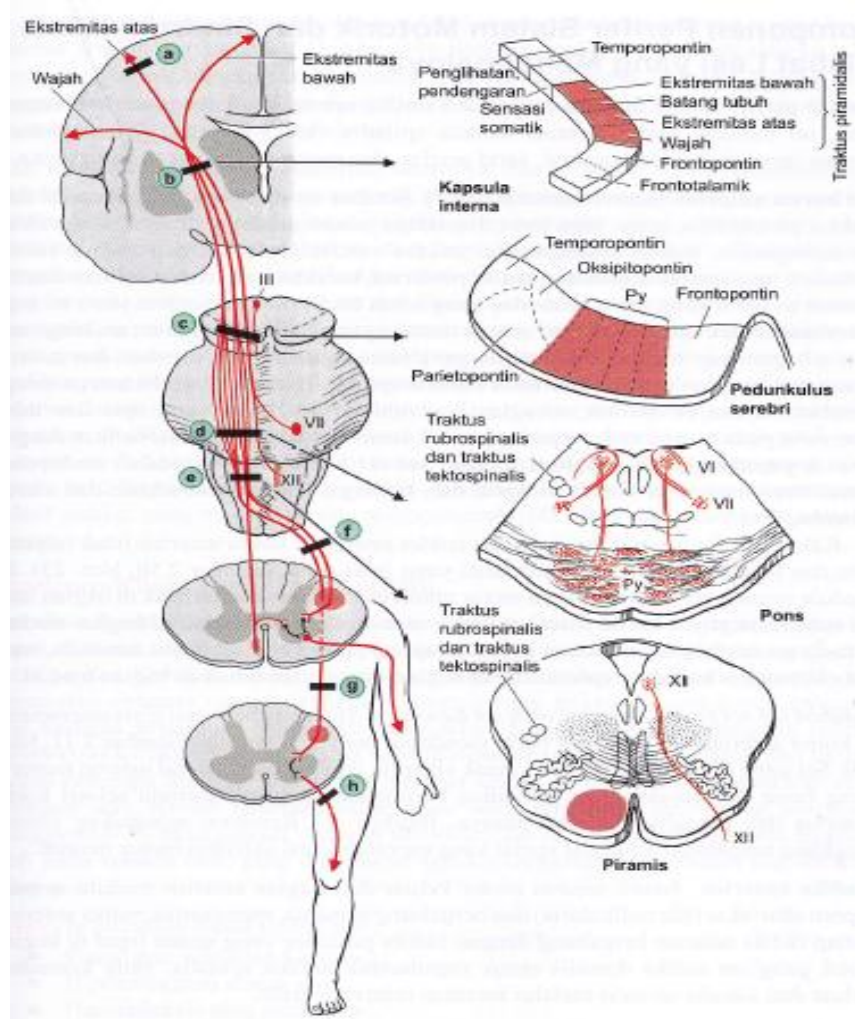
Pada keadaan fisiologis, impuls motorik untuk gerakan volunter dicetuskan terutama di girus presentralis lobus frontalis (korteks motorik primer,

yaitu area 4 broadmann) dan area kortikal di sekitarnya (neuron motorik pertama). Impuls ini berjalan pada jaras serabut yang panjang (traktus kortikunuklearis dan traktus kortikospinalis/jaras piramidal), melewati batang otak, dan turun ke medula spinalis ke kornu anterior tempat membentuk neuron motorik kedua. Kemudian impuls ini akan berjalan melewati radiks anterior, pleksus saraf (di servikal dan lumbal), kemudian ke saraf perifer dan kemudian ke otot-otot rangka. Serabut saraf yang muncul di area 4 akan membentuk traktus piramidalis yang merupakan hubungan langsung dan tercepat antara area motorik primer (di otak) dan neuron motorik kedua (di kornu anterior). Area-area inilah yang akan mengatur modulasi gerakan dan tonus otot (Baehr dan Frotscher, 2010).

Area yang bertanggung jawab untuk mengatur fungsi motorik ini disuplai darahnya oleh arteri serebri anterior dan arteri serebri media yang merupakan percabangan dari arteri karotis interna (Bradac, 2011). Apabila terjadi stroke iskemik yang mengakibatkan infark pada daerah teritori arteri serebri anterior, akan terjadi kelemahan pada kaki kontralateral. Hal ini terjadi karena kerusakan pada traktus kortikospinalis pada lobus parasentralis (Chamorro *et al.*, 1997). Lobus parasentralis merupakan kelanjutan ke arah superomedial pada area presentralis dan merupakan area prominen sel piramidalis (Snell, 2010).

Kelemahan yang terjadi tidak hanya terbatas pada kaki saja, dapat juga mengenai ke lengan distal dan wajah (Chamorro *et al.*, 1997). Hemiparesis pada wajah dan tangan (kelemahan brakhiofasial) sering terjadi karena daerah tersebut memiliki representasi kortikal yang luas (Baehr dan Frotscher, 2010). Kelemahan pada lengan dapat merupakan hasil dari infark pada sepertiga anterior dari posterior kapsula interna. Hal ini disebabkan oleh oklusi arteri kecil

yang timbul dari segmen proksimal arteri serebri anterior atau arteri karotis interna bagian anterior (Chamorro *et al.*, 1997). Proses iskemik seringkali melibatkan kapsula interna. Hal ini mengakibatkan hemiplegia spastik kontralateral karena mengenai serabut piramidal dan non piramidal serta traktus kortikonuklearis. Iskemik pada kapsula interna ini juga menyebabkan paresis nervus fasialis kontralateral dan hipoglosus sentral (Baehr dan Frotscher, 2010). Pada gambar 2.13 dijelaskan bahwa lesi pada otak akibat stroke iskemik dapat mempengaruhi kelemahan pada ekstremitas (kaki dan lengan) serta wajah.



Gambar 2.13 Lokasi-lokasi lesi akibat stroke iskemik (Baehr dan Frotscher, 2010)

2.2.8 Korelasi antara Kerusakan Sel Neuron, Volume Infark, dan Gangguan Fungsi Motorik

Terjadinya kerusakan sel neuron melalui proses apoptosis dan meningkatnya volume infark karena proses edema otak memiliki patogenesis yang sama. Keduanya terjadi karena adanya iskemik otak yang menyebabkan berkurangnya oksigen dan glukosa ke otak sehingga mengakibatkan pembentukan ATP menurun dan kemudian terjadinya kegagalan Na^+/K^+ -ATPase yang berlanjut pada apoptosis sel neuron yang mengakibatkan terjadinya gambaran kerusakan neuron (Breton dan Rodriguez, 2012). Hal ini juga berlanjut pada terakumulasinya cairan yang mengakibatkan edema sitotoksik dan terjadinya volume infark (Jha, 2003). Selain itu, meningkatnya Ca^{2+} yang disebabkan oleh rusaknya reseptor NMDA mengakibatkan peningkatan ROS, sitokin inflamasi, molekul adesi mengakibatkan kerusakan sel yaitu apoptosis dan kerusakan sel endotel serta permeabilitas sawar darah otak yang kemudian akan menjadi edema vasogenik (Breton dan Rodriguez, 2012; Yenari dan Han, 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh Hardemark yang melakukan studi dengan hewan coba yang diinduksi stroke dengan MCAO menunjukkan degeneratif sel neuron otak dan peningkatan pada infark volume (Hardemark, *et al.*, 1988).

Penelitian yang dilakukan oleh Starr dan kawan-kawan menunjukkan bahwa kerusakan pada permeabilitas sawar darah otak yang bermanifestasi sebagai peningkatan volume infark dapat menyebabkan kerusakan pada sel neuron (Starr, *et al.*, 2003). Beberapa penelitian telah memperlihatkan volume kerusakan menyebabkan peningkatan keparahan stroke, atau keterbatasan beraktivitas dengan melihat beberapa skala sebagai indikator seperti *Glasgow*

Coma Scale atau *Rankin Scale* dan skala fungsi motorik. Penelitian yang dilakukan oleh Schiemanck dan kawan-kawan menunjukkan hubungan antara volume lesi yang terjadi pada area yang disuplai oleh arteri media serebri dengan fungsi motorik serta kualitas hidup setelah stroke. Studi ini menghitung volume kerusakan yang terjadi dengan MRI dan membandingkannya dengan beberapa skor fungsional motorik seperti indeks motorik dan *Fugl-Meyer Motor Assessment Scale*. Indeks motorik meliputi 3 gerakan yaitu *arm motor score* (lengan atas dan bawah) dan *leg motor score*. Sedangkan *Fugl-Meyer Motor Assessment Scale* meliputi reflek, *stereotyped synergy patterns*, dan gerakan normal. Dari penelitian ini tampak adanya korelasi antara volume lesi dan kerusakan fungsi motorik (Schiemanck, S.K., 2005).

Pada penelitian lain juga memperlihatkan keterkaitan antara volume infark dengan fungsi sensorimotorik. Seperti yang dilakukan oleh Rogers dan kawan-kawan yang melakukan percobaan pada tikus yang diinduksi stroke secara permanen dan kemudian dilakukan penilaian fungsi dengan menggunakan *grid-walking test* dan *rotarod test*. Menunjukkan bahwa *grid-walking test* dan *rotarod test* menunjukkan hasil penilaian yang kuantitatif dan objektif untuk fungsi motorik akibat kerusakan iskemik berkorelasi terhadap volume infark yang terjadi (Rogers, et al., 1997).

Fungsi motorik juga memiliki hubungan yang erat dengan neuron. Dengan terjadi perbaikan pada neuron sebagai penghantar impuls saraf maka kualitas fungsi motorik juga meningkat (Liu et al., 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Gracia dan kawan-kawan yang melakukan studi dengan menggunakan hewan coba yang diinduksi stroke dengan metode *middle cerebral artery occlusion* (MCAO). Pada percobaan ini fungsi dinilai dengan *neurological score*. *Neurologic*

score terdiri dari aktivitas spontan, gerakan simetris pada keempat kaki, *outstretching* kaki depan, *climbing*, propriosepsi, dan respon terhadap sentuhan *vibrissae*. Sedangkan kerusakan neuron dinilai secara histopatologi. Rata-rata hasil *neurological score* pada tikus yang diinduksi stroke secara permanen (24-96 jam) menunjukkan penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok yang diinduksi stroke sementara (30-60 menit). Rata-rata jumlah neuron yang rusak pada tikus yang diinduksi stroke secara permanen menunjukkan peningkatan hampir 80% dan secara signifikan berbeda dibandingkan dengan kelompok tikus yang diinduksi stroke sementara maupun pada tikus yang tidak diinduksi stroke (Gracia, *et al.*, 1995). Dari penelitian ini dapat dilihat adanya hubungan antara peningkatan jumlah sel neuron yang rusak dan penurunan fungsi motorik.

2.2.9 Mekanisme Pertahanan terhadap Stroke Iskemik

Pada keadaan iskemik ternyata tidak hanya terjadi kematian sel akan tetapi tubuh juga memiliki mekanisme pertahanan atau proteksi dengan memperlambat atau mencegah kematian sel. Aktivasi reseptor NMDA (NMDAR) tidak hanya memiliki efek yang merugikan terhadap neuron tetapi NMDAR memiliki peran penting dalam plastisitas sinaptik. Ikatan antara agonis dan NMDAR meningkatkan Ca^{2+} *postsynaptic* dan mengaktifkan beberapa sinyal transduksi termasuk jalur ERK (*extracellular sinyal-regulated kinase*) 1/2. Dalam sistem saraf, jalur ERK 1/2 berperan dalam mengendalikan neuroplastisitas, perkembangan saraf, dan perbaikan koneksi sinaptik. Aktivasi NMDAR pada jalur ERK1/2 tergantung pada Ca^{2+} dan membutuhkan *small GTP (Guanosine Triphosphate) binding protein RAS*. Salah satu subunit dari NMDAR yaitu NR2B,

baik secara *in vitro* maupun *in vivo* dapat berikatan dengan RasGRF1. RasGRF1 merupakan *Ras-specific GDP(Guanosine Diphosphate)/GTP exchange factor* dan activator RAS. RasGRF1 diekspresikan di dalam sistem saraf pusat secara selektif dan banyak terdapat pada sinaps ([Krapivinsky et al., 2003](#)).

2.3 Regenerasi Saraf Otak

Secara umum, regenerasi diartikan sebagai penggantian dan perbaikan terhadap jaringan atau organ pada organisme yang telah rusak atau mengalami kerusakan yang parah. Regenerasi pada manusia merupakan pembentukan struktur baru untuk menggantikan struktur yang hilang atau rusak karena *injury* (*reparative regeneration*) atau hilangnya aktivitas normal (*physiological regeneration*) (Carlson, 2007). Regenerasi pada otak meliputi diferensiasi sel, kemampuan bertahan hidup (*survive*), integrasi jaringan neuronal yang sudah ada dan regenerasi akson. Regenerasi saraf otak dapat dianggap sebagai plastisitas dari sistem saraf pusat (Johansson, 2007). Pengertian plastisitas sendiri adalah kemampuan untuk beradaptasi seumur hidup terhadap perubahan, mengatasi cedera, dan mengkompensasi hilangnya fungsi dalam satu bagian otak dengan bekerja lebih keras di daerah lain (Caplan, 2007). Regenerasi otak berhubungan dengan pembentukan neuron yang disebut neurogenesis. Regenerasi otak terjadi pada 2 area yang berbeda yaitu zona subgranular pada *dentate gyrus* (DG) di hipokampus dan *subventricular region* (SVZ) di otak bagian depan (*forebrain*). *Neural stem cell* atau *progenitor stem cell* (NSPCs) merupakan cikal bakal terbentuknya neuron. NSPCs dapat diisolasi di berbagai area pada sistem saraf pusat (Barkho et al, 2006).

Astroglia dapat berfungsi sebagai *progenitor stem cell* (NSPCs) di daerah tertentu dari otak postnatal dan dewasa, seperti *ventricular subependymal zone*

dan *subgranular zone* dari hipokampus. Hal ini menimbulkan kemungkinan bahwa astroglia yang berasal dari daerah non-neurogenik seperti korteks serebral dapat menyebabkan neurogenesis ketika diberikan isyarat transkripsi yang tepat (Heinrich *et al.*, 2010).

2.3.1 Regenerasi pada Fungsi Motorik

Kerusakan fungsi motorik dikaitkan dengan kerusakan akson dan dendrit pada neuron. Akson memiliki kemampuan alami untuk mengalami regenerasi yang disebut sebagai proses *axonal sprouting*. *Axonal sprouting* memiliki 2 mekanisme utama untuk melakukan regenerasi. Jalur pertama adalah dengan melakukan restrukturisasi terhadap sitoskeleton neuronal. Jalur kedua adalah jalur yang melakukan respon pertahanan sel di mana gen diatur untuk memberi perlindungan terhadap proses inflamasi, *oxidative stress*, dan ketidakseimbangan ion seluler (Ng *et al.*, 2012).

Jalur restrukturisasi terhadap sitoskeleton neuronal memiliki peran yang besar dalam memperbaiki akson yang rusak. Akson memiliki peran sebagai pembawa impuls saraf terhadap badan sel yang akan memproses pesan impuls listrik untuk fungsi motoris (Ng *et al.*, 2012). Perbaikan pada jalur ini memiliki 2 komponen utama yang harus terpenuhi yaitu mikrotubul dan filament aktin. Filament aktin yang terkumpul di ujung-ujung saraf akan membentuk akson-akson baru. Mikrotubul juga membantu pada strukturisasi akson sehingga akson dapat tumbuh dan berfungsi kembali. Jika akson dapat tumbuh kembali, fungsi motorik pun dapat berangsur-angsur pulih (Schaefer *et al.*, 2008).

Kedua komponen utama dalam proses ini juga berfungsi mengarahkan akson-akson untuk mengarah pada ujung saraf yang benar. Proses ini disebut juga *axonal guidance*. *Axonal guidance* memulai jalur untuk melokalisasi aktin

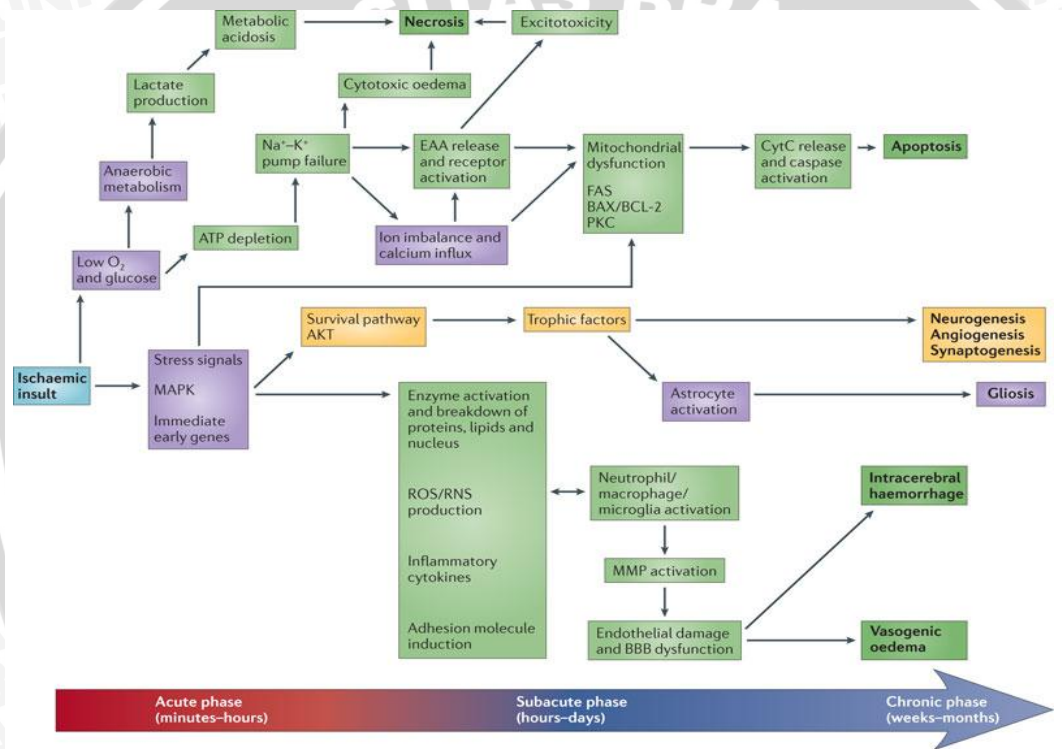
yang akan membentuk struktur untuk meregulasi protein adhesi. Protein adhesi juga akan membantu proses pertumbuhan akson yang baru (Schaefer *et al.*, 2008).

Jalur kedua menunjukkan *cell survival response*. Jalur yang menginisiasi dan membantu pertumbuhan secara aksonal. Pada dasarnya neuron memiliki kemampuan untuk menurunkan kerusakan dengan meningkatkan antioksidan, mengatur secondary messenger, mensupresi gen apoptosis, mengontrol ion dan mengekspresikan siklus protein pada konteks *injury* neuron. Hal-hal ini sangat penting untuk menghindari kematian sel dan memastikan keberhasilan regenerasi neurite (akson dan dendrit) (Ng *et al.*, 2012). Pertumbuhan akson tersebut dipicu oleh sinyal dari faktor-faktor intraseluler termasuk Ca^{2+} , faktor transkripsi, faktor pertumbuhan dan beberapa *second messenger* lainnya. Salah satu factor yang berperan penting dalam pertumbuhan aksonal adalah factor transkripsi Bcl2 yang juga memulai plastisitas dan regenerasi (Horner dan Gage, 2000).

2.3.2 Potensi Regenerasi pada Kerusakan Saraf Otak

Dengan adanya keadaan *injury* setelah stroke yang terjadi melalui patofisiologi seluler, neuron korteks otak mengupayakan pemulihan fungsi otak melalui plastisitas (Carmichael, 2003). Secara anatomis, pada lesi otak iskemik akan terjadi *axonal sprouting* yang diinduksi oleh aktifitas neuron (Carmichael, 2003). Aktifitas neuron tersebut sangat dipengaruhi oleh aktifitas astrosit. Astrosit merupakan sel glia yang menempati 25-50% volume otak dan tidak memiliki akson, potensial aksi, dan potensial sinaptik. Astrosit memiliki peran penting dalam mendukung struktur, metabolisme neuron, aktifitas sinaptik, *neuronal antioxidant defense*, dan mengeluarkan *growth factor* yang turut membantu

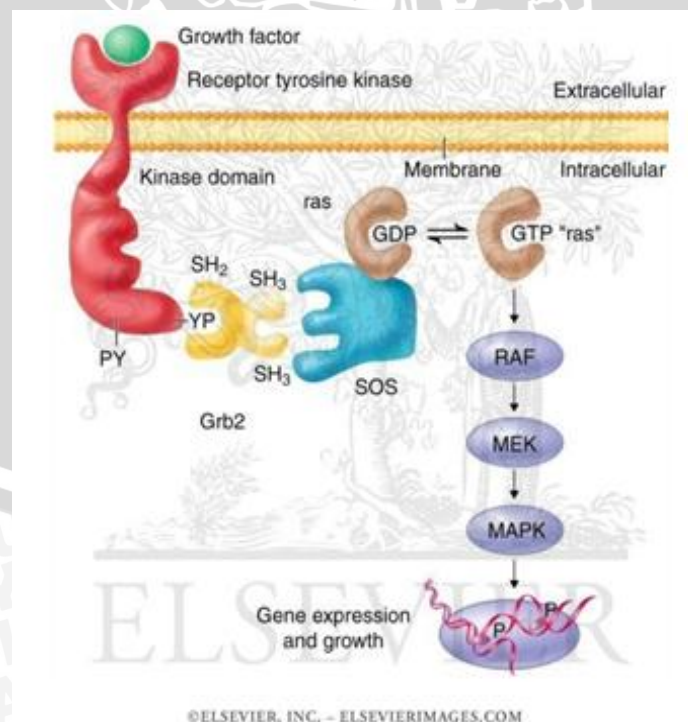
proses neurogenesis dan regenerasi saraf setelah stroke. Astrosit mempengaruhi kehidupan sel saraf setelah iskemik dengan ekspresi molekul permukaan dan mengeluarkan faktor tropik yang menginduksi neurogenesis, angiogenesis dan synaptogenesis (Chen dan Swanson, 2003; Yenari dan Han, 2012). Di bawah ini dijelaskan secara keseluruhan kerusakan akibat iskemik dan jalur pengaktifan faktor tropik yang berguna untuk perbaikan sel neuron.



Gambar 2.14 Patofisiologi seluler neuron otak setelah stroke iskemik secara umum dan aktivasi faktor tropik (Yenari dan Han, 2012)

Secara lebih rinci, astrosit dapat memproduksi *neurotrophic factor* (NTFs) seperti NGF (*neuro growth factor*), BDNF (*brain derived neurotrophic factor*), GDNF (dan *glial cell line-derived neurothropic factor*), yang memiliki peran esensial dalam mempertahankan fungsi dan keberlangsungan hidup neuron

(Xue *et al.*, 2007). NGF akan berikatan dengan reseptornya yaitu TrkA (Tyrosine kinase A), BDNF berikatan dengan reseptor TrkB, dan GDNF berikatan dengan reseptor GFR α (Hughes, 2012). Trk merupakan reseptor famili dari *tyrosine kinase*. Ketika faktor neutropik berikatan dengan Trk, Trk menjadi aktif (Zhang *et al.*, 2012). Reseptor segera mengalami proses autofosforilasi kemudian menghasilkan fosforilasi dari substrat dan Ras yang teraktivasi. Ras-GTP menginduksi Raf isoform untuk memasuki membran plasma diikuti oleh fosforilasi dari MEK1 / 2 dan kemudian ERK1/2 (Qi dan Elion, 2005). ERK1/2 ini merupakan salah satu dari 5 anggota MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) yang melimpah di sistem saraf pusat dan diaktifkan selama peristiwa fisiologis dan patologis seperti iskemia otak. ERK1/2 meregulasi proliferasi, diferensiasi, meiosis, dan pembelajaran serta memori di sel saraf (Cavanaugh *et al.*, 2008). Proses induksi jalur ERK 1/2 dijelaskan pada gambar 2.15.



Gambar 2.15 Mekanisme ERK 1/2 (Goldman dan Ausiello, 2008)

2.4 Mekanisme Stroke pada Hewan Coba

2.4.1 Metode Induksi Stroke

Metode induksi stroke yang digunakan dalam penelitian ini adalah modifikasi dari metode *bilateral carotid artery occlusion* (BCAO). Metode induksi BCAO adalah sebuah metode induksi stroke yang melakukan ligasi pada arteri karotis komunis hewan coba secara bilateral (Ishikawa *et al.*, 2003). Metode induksi tersebut dimodifikasi menjadi oklusi arteri karotis komunis secara unilateral, dan telah dibuktikan bahwa pengikatan arteri karotis komunis unilateral dapat menjadikan hewan coba menjadi stroke iskemik (Kitagawa, 1998). Modifikasi lainnya adalah pengikatan arteri karotis interna dan eksterna yang merupakan cabang dari arteri karotis komunis. Pengikatan pada daerah ini dilakukan karena posisinya yang lebih mendekati otak sehingga memudahkan terjadinya stroke iskemik. Waktu yang digunakan untuk meligasi arteri karotis interna dan eksterna adalah selama 45 menit (Kuraoka *et al.*, 2009).

2.4.2 Mekanisme Stroke oleh Metode Induksi Stroke

Metode BCAO menginduksi stroke pada hewan coba dengan menghambat aliran ke darah dalam otak yang melalui arteri karotis. Pembuluh darah yang teroklusi dalam metode ini adalah arteri karotis eksterna dan interna. Arteri karotis interna memberi suplai darah kepada sebagian besar korteks otak. Arteri serebri media merupakan cabang utama dari arteri karotis komunis. Pembuluh darah ini memberi suplai darah ke bagian korteks motorik primer yang berfungsi untuk gerakan volunter pada manusia.

2.4.3 Hal yang Membuktikan Terjadinya Stroke pada Hewan Coba

Stroke memiliki beberapa biomarker yang bisa dijadikan sebagai petanda awal dan dapat dideteksi dalam sirkulasi. Ada 5 marker yang spesifik untuk mendeteksi terjadinya stroke pada hewan coba, yaitu S-100 β , *neuron growth factor- β* (NGF- β), *von Willebrand Factor* (vWF), *matriks metalloproteinase-9* (MMP-9), dan *monocyte chemotactic protein-1* (MCP-1) (Reynolds *et al.*, 2003). Beberapa marker ini dapat dideteksi menggunakan metode ELISA. Marker ini mendeteksi dengan cepat perubahan awal yang terjadi pada permulaan periode stroke.

MMP-9 adalah marker awal stroke yang dapat dideteksi menggunakan ELISA melalui serum darah hewan coba. MMP-9 muncul bersamaan dengan infiltrasi neutrofil dalam neuron otak yang mengalami iskemik. Ekspresi MMP-9 juga meningkat seiring dengan proses iskemik yang semakin meningkat pada sel neuron (Justicia *et al.*, 2003). Mekanisme transkripsi MMP-9 dalam sel neuron masih belum diketahui secara pasti (Ganguly *et al.*, 2013), namun keberadaan MMP-9 selalu terdeteksi pada otak yang mengalami iskemik dan tidak pernah ditemukan pada sel otak yang normal (Gheeyoung *et al.*, 2008).

2.5 Resveratrol

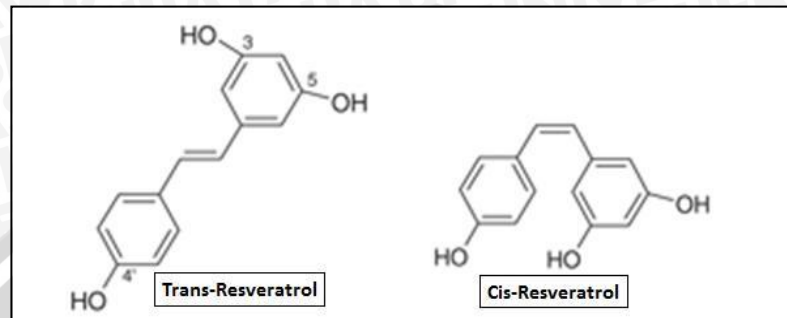
Polifenol adalah senyawa antioksidan yang banyak terdapat dalam makanan, berbagai jenis buah, sayuran, sereal, zaitun, kacang-kacangan, coklat, dan minuman, seperti teh, kopi, dan anggur. Sebagai antioksidan, polifenol dapat melindungi sel terhadap kerusakan oksidatif dan membatasi resiko berbagai penyakit degeneratif yang berhubungan dengan stres oksidatif. Polifenol memiliki beberapa kelompok hidroksil pada cincin aromatik dan juga cincin fenol. Polifenol dibagi menjadi beberapa kelas sesuai dengan jumlah

cincin fenolnya. Kelompok utama polifenol adalah flavonoid, asam fenolat, fenolik alkohol, stilbenes, dan lignan (D'Archivio *et al.*, 2007).

Stilbenes berukuran kecil (MW 210-270 g/mol) dan secara alami ditemukan pada berbagai sumber, yaitu tanaman, produk aromaterapi, dan suplemen diet. Stilbenes yang ditemukan di alam adalah sebagai stereoisomer E (cis) dan Z (trans), tergantung di mana gugus fungsionalnya melekat. Isomer E dan Z masing-masing memiliki efek farmakologis yang berbeda, di mana isomer Z memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan isomer E. Salah satu anggota stilbenes yang terdapat dalam diet manusia adalah resveratrol (Roupe *et al.*, 2006).

Resveratrol terutama ditemukan pada kacang tanah, anggur merah, dan anggur. Resveratrol memiliki berbagai fungsi sebagai anti-inflamasi, anti-kanker dan agen kemoprotektif (Roupe *et al.*, 2006). Resveratrol dihasilkan oleh tanaman sebagai respon terhadap infeksi karena patogen atau berbagai kondisi stres. Bentuk dari senyawa ini dapat berupa isomer trans atau cis, di mana sebagian besar berada dalam bentuk glikosilasi (D'Archivio *et al.*, 2007). Kedua struktur isomer resveratrol dapat dilihat pada gambar 2.16. Trans-resveratrol merupakan bentuk aktif, di mana trans-resveratrol dapat mengalami perubahan menjadi cis-resveratrol ketika dipanaskan atau terkena radiasi UV. Trans-resveratrol lebih banyak ditemukan dan memiliki aktivitas biologi yang lebih besar dibandingkan cis-resveratrol. Trans-resveratrol merupakan komponen alami dari *Vitis vinifera L.* yang melimpah di bagian kulit anggur (tetapi tidak di daging anggur) dan di epidermis daun tanaman anggur, terutama anggur merah. Sementara itu dalam kebanyakan studi, cis-resveratrol belum terdeteksi dalam

anggur namun terdeteksi dalam *wine* dengan konsentrasi yang bervariasi (Orallo, 2006).



Gambar 2.16 Struktur Resveratrol (Cottart *et al.*, 2010)

2.5.1 Bioavailabilitas dan Metabolisme Resveratrol

Bioavailabilitas resveratrol tergantung pada penyerapan dan metabolisemenya. Dalam studi *in vivo*, penyerapan resveratrol mencapai 70 % setelah pemberian secara oral pada manusia. Resveratrol bersifat lipofilik namun penyerapannya tidak dipengaruhi oleh jenis makanan dan jumlah lemak yang terkandung dalam makanan (King *et al.*, 2006). Pada tikus, resveratrol terdeteksi dalam tinja, urin, empedu, dan plasma serta pada ginjal, lambung, usus, dan hepar setelah pemberian secara oral. Resveratrol dapat diserap dengan baik oleh tikus dan manusia dan dimetabolisme oleh enzim hepar fase II yang mengarah pada pembentukan metabolit glukoronida dan sulfat. Sebagian resveratrol tetap berada dalam bentuk utuh, dan berikutnya resveratrol beserta konjugatnya dikeluarkan lewat feses dan urine (Udenigwe *et al.*, 2008).

Suatu studi membahas mengenai konsentrasi resveratrol pada jaringan tikus setelah pemberian anggur merah. Pada kelompok tikus pertama, 42 ekor tikus masing-masing diberi 4mL anggur merah yang mengandung 6,5mg/L resveratrol via intubasi intragastric selama 15 hari. Dosis yang diberikan

sebanding dengan konsentrasi resveratrol sekitar 86 $\mu\text{g}/\text{kg}$, mewakili jumlah rata-rata resveratrol pada subjek manusia yang meminum satu gelas anggur merah. Hasilnya, konsentrasi maksimum resveratrol dalam darah adalah 20.2ng/mL dan dicapai 1 jam setelah pemberian. Pada ekstraksi hepar menunjukkan konsentrasi rata-rata 20.7 ng/g, pada jantung terkandung 2.2 ng/g, dan pada ginjal menunjukkan rata-rata konsentrasi resveratrol sebesar 20 ng/g. Pada kelompok tikus kedua, masing-masing tikus diberi 2mL anggur merah yang mengandung 43 $\mu\text{g}/\text{kg}$ resveratrol. Hasil menunjukkan konsentrasi resveratrol dalam hepar menjadi 53.5ng/g, jantung menjadi 3.1ng/g, dan ginjal menjadi 44.1ng/g. Kesimpulan dari penelitian ini adalah konsentrasi resveratrol dalam darah, jantung, hati, dan ginjal dapat dicapai melalui konsumsi moderat dari anggur merah dalam studi *in vitro* (Roupe *et al.*, 2006).

Pada tahun 2004, Walle dan kawan-kawan menunjukkan bahwa pemberian resveratrol secara intravena mengakibatkan konversi resveratrol ke dalam bentuk konjugat sulfat dalam waktu 30 menit pada manusia. Terdapat lima metabolit yang berbeda yang nampak dalam urin manusia, yaitu resveratrol monosulfat, dua bentuk isomer resveratrol monoglukoronida, dihidroresveratrol monosulfat dan dihidroresveratrol monoglukoronida. Jumlah metabolit sulfat adalah 37% di dalam urin dan total konjugat glukuronida adalah 19%, sisanya adalah sebagian besar metabolit yang tidak diketahui dan sedikit resveratrol yang berada dalam bentuk bebas. Selain itu, Walle dan kawan-kawan menemukan bahwa waktu paruh resveratrol dalam serum adalah 9,2 jam (Baur dan Sinclair, 2006).

2.5.2 Efek Resveratrol terhadap Eksitotoksikitas

2.5.2.1 Efek Resveratrol untuk Mengembalikan Na^+/K^+ -ATPase ke Level

Normal

Terjadinya iskemik akan mengakibatkan gangguan Na^+/K^+ -ATPase sehingga merusak neuron dan mengakibatkan edema otak yang kemudian memberikan gambaran volume infark. Keduanya memiliki mekanisme yang sama yaitu adanya gangguan pada Na^+/K^+ -ATPase. Resveratrol terbukti mengembalikan aktifitas Na^+/K^+ -ATPase di kortek pada level normalnya. Hal ini dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Simao dan kawan-kawan pada tahun 2011. Penelitian ini menggunakan tikus yang diinduksi menjadi *Transient Ischemic Attack* (TIA) yang diberi resveratrol selama 7 hari secara injeksi intraperitoneal dengan dosis 30 mg/kgBB. Penelitian ini memperlihatkan efek resveratrol dalam mengembalikan level Na^+/K^+ -ATPase pada korteks otak dan hipokampus. Kembalinya level Na^+/K^+ -ATPase ke level yang normal memperbaiki fungsi kembali seperti semula (Simao *et al.*, 2011).

2.5.2.2 Efek Resveratrol terhadap Uptake Glutamat Ekstraseluler

Astrofit yang merupakan salah satu jenis dari sel glia memiliki peran untuk menjaga homeostasis dari sistem saraf pusat, menyediakan faktor tropik untuk sel-sel neuron, membersihkan neurotransmitter yang dilepaskan di celah sinaps, mengembalikan keseimbangan gradien ion di celah sinaps, memediasi respon imun otak, dan mengurangi stres oksidatif (Wang dan Michaelis, 2010).

Fungsi utama dari astrofit adalah *menguptake* glutamat pada celah sinaps. Glutamat adalah neurotransmitter utama dalam sistem saraf pusat dan memainkan peran penting dalam plastisitas saraf dan neurotoksisitas. Modulasi

glutamat ekstraseluler menentukan fungsi fisiologis dan eksitotoksiknya. Mekanisme utama yang bertanggung jawab untuk memelihara agar konsentrasi ekstraseluler glutamat tetap rendah dilakukan oleh protein transporter glutamat, yang menggunakan gradien elektrokimia melintasi membran plasma sebagai penggerak untuk *uptake*. Astrosit berperan untuk mengkonversi glutamat menjadi glutamin dengan bantuan enzim glutamin sintetase. Glutamin kemudian bisa dilepaskan kembali ke dalam ekstraseluler oleh astrosit dan diambil oleh neuron. Neuron akan mengkonversi glutamin menjadi glutamat kembali dan sistem ini disebut siklus glutamat-glutamin (Quincozes-Santos dan Gottfried, 2011).

Pemberian resveratrol mampu meningkatkan *uptake* glutamat oleh astrosit. Sebuah studi menginvestigasi berbagai pengaruh konsentrasi resveratrol antara 10–250 μM terhadap astrosit pada korteks primer otak. Kultur astrosit diambil dari korteks serebral neonatus tikus Wistar. *Uptake* glutamat diukur dengan menggunakan L-[2,3- ^3H] glutamat dan aktivitas enzim glutamin sintetase diukur menggunakan *enzymatic colorimetric assays*. Hasilnya pada konsentrasi 25 μM , resveratrol mampu meningkatkan *uptake* glutamat dan sebaliknya pada 250 μM , resveratrol menurunkan *uptake* glutamat namun dapat meningkatkan aktivitas enzim glutamin sintetase (Almeida *et al.*, 2007). Resveratrol disebutkan juga memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar Ca^{2+} intraseluler pada neuron baik presinaptik maupun postsinaptik neuron, dan menghambat faktor pro-apoptotik pada eksitotoksikitas (Moldzio *et al.*, 2013).

2.5.2.3 Efek Resveratrol terhadap *N-methyl-D-aspartate* (NMDA)

Reseptor NMDA memegang peran penting dalam proses eksitotoksikitas. Aktivasi reseptor NMDA yang berlebihan mengakibatkan kerusakan keseimbangan Ca^{2+} dan meminduksi terjadinya influks Ca^{2+} yang berlebihan.

Influks Ca^{2+} ini memberikan dampak jelek dan pada akhirnya akan mengakibatkan apoptosis. Pada penelitian tikus yang diberi infus morfin, terjadi peningkatan ekspresi reseptor NMDA. Pada penelitian ini, tikus diinfus morfin selama 5 hari melalui kateter intratekal dan pada hari ke 5 diberi injeksi resveratrol. Hasilnya, resveratrol dapat menurunkan ekspresi reseptor NMDA (NR1). Resveratrol memiliki efek inhibisi terhadap reseptor NMDA sehingga menurunkan influks Ca^{2+} yang berlebihan (Tsai *et al.*, 2012).

2.5.2.4 Efek Resveratrol terhadap Stres Oksidatif

Sistem saraf pusat (SSP) menjadi salah satu target dari resveratrol karena polifenol ini dapat melewati sawar darah otak. Resveratrol mampu melindungi sel-sel saraf otak dari kerusakan akibat ROS dengan cara menstimulasi sistem antioksidan endogen. Stres oksidatif mampu menimbulkan berbagai penyakit pada manusia termasuk penyakit neurodegeneratif. Sel-sel neuron otak memiliki kapasitas untuk memproduksi peroksida, terutama hidrogen peroksida (H_2O_2) dalam jumlah yang besar (Quincozes-Santos dan Gottfried, 2011).

Metabolisme otak yang tinggi mengakibatkan sel neuron otak membutuhkan ATP yang tinggi juga untuk menjalankan fungsinya. Peningkatan permintaan ATP yang sangat tinggi atau penurunan produksi ATP dapat mempengaruhi fungsi saraf yang normal serta menurunkan respon dari neuron terhadap stres oksidatif tinggi. Beberapa sel neuron dapat bertahan dalam keadaan stres oksidatif yang tinggi dan sisanya ada populasi neuron yang sangat rentan terhadap oxidative stress sehingga dapat terjadi penurunan fungsional dan kematian sel. Neuron yang rentan terhadap stres oksidatif akan memiliki permintaan ATP yang tinggi untuk melawan keberadaan stres oksidatif

intrinsik yang tinggi. ATP ini digunakan oleh sel neuron untuk memproduksi antioksidan, memperbaiki dan menghambat makromolekul yang teroksidasi (protein, lipid, dan asam nukleat). Untuk memenuhi kebutuhan ATP yang tinggi, otak mengkonsumsi oksigen (O_2) dengan cepat. Hal ini membuat otak rentan terhadap gangguan fungsi mitokondria dan akan mengakibatkan peningkatan O_2^- . Meskipun demikian, otak memiliki pertahanan antioksidan sendiri dimana mitokondria mengandung superoksida dismutase (SOD) dan glutathion tereduksi. Antioksidan superoksida dismutase (SOD) membentuk H_2O_2 dari O_2^- (Wang dan Michaelis, 2010).

Jadi selain sebagai sumber ATP, mitokondria juga dapat memproduksi radikal bebas dan mengakibatkan inisiasi dari stres oksidatif. O_2^- dan H_2O_2 yang dihasilkan oleh mitokondria dapat bereaksi lebih lanjut untuk menghasilkan ROS lainnya, seperti radikal hidroksil dan peroksinitrit sehingga akan lebih meningkatkan stres oksidatif. Mitokondria sendiri juga dapat mengalami kerusakan akibat radikal bebas yang dihasilkan (Halliwell, 2001).

Resveratrol mampu bertindak sebagai redoks potensial dalam menurunkan stres oksidatif. Dalam sebuah studi, dilakukan dua model penginduksian oxidative stress eksogen secara in vitro: (I) konsentrasi hidrogen peroksida yang tinggi (1 nM) tetapi waktu pemaparannya pendek (30 menit/akut), (II) konsentrasi hidrogen peroksida yang lebih rendah (0,1 mM) tetapi waktu pemaparannya panjang (6 jam). Setelah penginduksian stres oksidatif, diberikan 100 μ M resveratrol dan didapatkan hasil bahwa resveratrol dapat melindungi kerusakan sel akibat hidrogen peroksida pada model I dan memiliki efek potensiasi pada model II (Quincozes-Santos dan Gottfried, 2011).

Studi lain meneliti mengenai mekanisme oksidatif dari efek neuroprotektif resveratrol pada kelainan struktural dan biokimia tikus yang mengalami iskemia otak global. Penelitian ini menggunakan model eksperimental TIA (Transient Ischemic Attack) global pada tikus Wistar yang diinduksi dengan metode oklusi empat pembuluh darah selama 10 menit dan diikuti dengan periode yang berbeda dari reperfusi. Pada pengecatan Nissl dan Fluoro Jade C menunjukkan kematian neuronal yang luas 7 hari setelah I/R. Temuan ini didahului oleh peningkatan ROS, NO, peroksidasi lipid, serta penurunan aktivitas $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ dan penurunan pertahanan antioksidan (enzimatik dan non-enzimatik) di hippocampus dan korteks. Pemberian resveratrol 7 hari sebelum iskemik dengan injeksi intraperitoneal (30 mg/kg) menurunkan kematian neuronal secara signifikan, menurunkan pembentukan ROS, NO, dan peroksidasi lipid. Selain itu, resveratrol menyebabkan kadar antioksidan dan aktivitas $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ dalam korteks dan hipokampus kembali ke tingkat normal. Hasil ini mendukung bahwa resveratrol dapat digunakan untuk pencegahan, atau terapeutik agen untuk iskemia otak global melalui efek resveratrol sebagai neuroprotektif dan *scavenger* ROS (Simao *et al.*, 2011).

Dalam penelitian lain, resveratrol juga terbukti dapat meningkatkan kadar antioksidan. Liu dan kawan-kawan, melakukan penelitian dengan menggunakan hewan coba yang dibuat mengalami *spinal cord injury* (SCI). Pada keadaan setelah SCI, dilakukan pengukuran kadar SOD dan MDA (malondialdehid). Kadar SOD mengalami penurunan, sedangkan MDA akan mengalami peningkatan akibat SCI. Selanjutnya hewan coba diberi terapi menggunakan resveratrol. Setelah pemberian resveratrol, dilakukan pengukuran ulang kadar

SOD dan MDA. Ternyata resveratrol terbukti dapat meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar MDA pada hewan model SCI (Liu *et al.*, 2011).

2.5.2.5 Efek Resveratrol terhadap Proses Apoptosis

Proses apoptosis melibatkan famili Bcl-2 yang memiliki sifat proapoptosis seperti Bax, Bak, dan Bad dan anti apoptosis seperti Bcl-2, Bcl-xl, dan Bcl-w yang kemudian akan menginduksi caspase 9 lalu caspase 3 dan kemudian terjadilah apoptosis. Dari penelitian yang dilakukan oleh Liu, resveratrol ternyata dapat menghambat ekspresi gen Bax dan caspase 3 (Liu *et al.*, 2011). Resveratrol juga meningkatkan Bcl-2 yang bersifat anti apoptosis (Yu, 2008).

2.5.3 Efek Resveratrol terhadap Kerusakan Neuron Korteks

2.5.3.1 Efek Resveratrol pada Pembuluh Darah

Teradapat banyak penyebab dari terjadinya stroke iskemik. Salah satunya ialah kelainan pembuluh darah. Kelainan pembuluh darah salah satunya ialah karena aterosklerosis. Dari penelitian yang dilakukan oleh Berrougui dan kawan-kawan didapatkan bahwa resveratrol ternyata juga memiliki efek anti aterogenik (Berrougui *et al.*, 2009). Resveratrol juga membantu dalam perbaikan disfungsi endotel. Resveratrol mencegah kakunya dinding pembuluh darah dan mencegah terjadinya vasokonstriksi yang berlebihan (Zhang *et al.*, 2009).

2.5.4 Efek Resveratrol untuk Regenerasi setelah Stroke Iskemik

Stroke Iskemik mengakibatkan kerusakan pada sel neuron otak, namun neuron korteks otak mengupayakan pemulihan fungsi otak melalui plastisitas (Carmichael, 2003). Plastisitas ialah kemampuan sel untuk beradaptasi seumur hidup terhadap perubahan, mengatasi cedera, dan mengkompensasi hilangnya fungsi dalam satu bagian sehingga fungsinya dapat kembali normal (Caplan,

2007). Dalam keadaan iskemik, astrosit memiliki peran penting dalam membantu proses neurogenesis dan regenerasi saraf setelah stroke. Astrosit mempengaruhi kehidupan sel saraf dengan mengekspresikan molekul permukaan dan mengeluarkan faktor tropik (Chen dan Swanson, 2003). Resveratrol dapat meningkatkan pelepasan faktor neurotropik (NGF, GDNF, dan BDNF) dan meningkatkan ekspresi reseptor tirosin kinase, Trk A dan TrkB (Valderrama *et al.*, 2009). Selain itu, resveratrol memiliki efek yang kuat sebagai neuroprotektif pada hewan coba yang sehat maupun hewan model stroke.

Sebuah penelitian menunjukkan bahwa pemberian resveratrol menghasilkan efek neurotropik pada neuron DA (dopamine) pada kultur primer neuron-glia otak tengah. Selanjutnya, astroglia mengeluarkan faktor neurotropik melalui stimulasi dari resveratrol. Hasil observasi yang didapatkan dalam penelitian ini adalah (1) resveratrol gagal menginduksi pengeluaran faktor neurotropik pada neuron DA dalam media kultur tanpa kehadiran astroglia, (2) kultur yang banyak mengandung astroglia menghasilkan efek neurotropik dengan pemberian resveratrol, (3) efek neurotropik dari resveratrol meningkat tergantung pada konsentrasi dan waktu, (4) efek neurotropik resveratrol menurun dengan pemberian anti-BDNF dan anti-GDNF. Temuan ini menunjukkan bahwa resveratrol dapat menghasilkan efek neurotropik melalui peginduksian pengeluaran BDNF dan GDNF oleh astroglia (Feng *et al.*, 2012). Lebih lanjut pengeluaran faktor neurotropik ini akan menginduksi jalur ERK 1/2 seperti yang telah dijelaskan sebelumnya.

Bcl-2 memegang peranan penting dalam regenerasi neurogenesis dan menghambat apoptosis neuron. Pada penelitian yang menggunakan tikus, dilakukan injeksi Bcl-2 ke dalam ventrikel lateral otak tikus yang telah dilakukan

oklusi arteri serebri media. Dari penelitian ini ditemukan bahwa Bcl-2 meningkat meningkatkan sel progenitor neural pada striatum ipsilateral dan korteks bagian frontal pada 1-4 minggu setelah oklusi. Overekspresi Bcl-2 meningkatkan perkembangan *newborn* neuron dalam neuron *GABAergic* dan *cholinergic* pada striatum ipsilateral, selain itu Bcl-2 juga menurunkan apoptosis pada *newborn* neuron (Zhang *et al.*, 2006).

2.5.5 Efek Resveratrol terhadap Sel Neuron yang Rusak, Volume Infark, dan Fungsi Motorik

Kerusakan sel akibat iskemik menjadi akar masalah terjadinya volume infark dan penurunan fungsi motorik. Resveratrol memiliki efek regenerasi yaitu dengan meningkatkan NTFs seperti NGF, BDNF, dan GDNF pada astroglia (Xue *et al.*, 2007). NTFs ini kemudian akan melakukan fosforilasi ERK1 dan ERK2 sehingga resveratrol dapat melakukan proliferasi, diferensiasi, dan meiosis neuron (axonal sprouting) (Zhang *et al.*, 2012). Kemampuan proliferasi dan diferensiasi neuron piramidal dapat menggantikan sel yang akan mati (*dying cell*) setelah kerusakan apoptosis dan membentuk koneksi kortikotalamus dan kortikospinal yang berhubungan dengan perbaikan fungsi motorik (Chen *et al.*, 2003).

Resveratrol juga berperan sebagai antioksidan dan memiliki kemampuan dalam mengembalikan Na^+/K^+ -ATPase ke level normal (Simao *et al.*, 2011). Efek ini sangat berpengaruh bagi pencegahan kerusakan sel neuron otak dan menurunkan volume infark. Telah dijelaskan sebelumnya bahwa kerusakan sel neuron otak dan edema otak disebabkan oleh eksitotoksisitas. Pada keadaan iskemik, terjadi penurunan ATP sehingga Na^+/K^+ -ATPase tidak dapat bekerja yang kemudian mengakibatkan sejumlah besar glutamat keluar dan

terakumulasi di ekstraseluler. Akibat dari glutamat ini mengakibatkan meningkatnya overstimulasi dari reseptor NMDA yang kemudian mengakibatkan masuknya Ca^{2+} yang berlebihan dan selanjutnya menghasilkan *calpains*, *Phospholipase A₂*, protein kinase, endonuklease, NOS, disfungsi mitokondria yang kemudian akan menghasilkan kerusakan mitokondria, kerusakan sel membran, produksi radikal bebas (NO, O_2^- , H_2O_2 , dan $-OH$), fragmentasi DNA, kerusakan sitoskeletal, dan kemudian terjadi apoptosis sel neuron (Ramon Rama Breton dan Julio Cesar Rodriguez, 2012) (Lo *et al.*, 2005) (Nakka, 2008).

Efek resveratrol yang dapat mengembalikan Na^+/K^+ -ATPase ke level normalnya mengakibatkan tidak terjadinya influks Na^+ dan Ca^{2+} serta efluks K^+ yang berlebihan dan tidak mengakibatkan depolarisasi yang secara terus-menerus. Selanjutnya tidak terjadi keluarnya glutamat yang berlebihan dan dapat mengurangi terjadinya kerusakan otak (Simao *et al.*, 2011). Resveratrol ternyata juga berefek terhadap astrosit otak. Astrosit dapat menguptake glutamat yang berada pada celah sinaps (Quincozes-Santos dan Gottfried, 2011). Glutamat yang berlebihan akan mengakibatkan overstimulasi reseptor NMDA yang mengakibatkan meningkatnya influks Ca^{2+} . Resveratrol juga mampu menurunkan reseptor NMDA dan juga influks Ca^{2+} (Tsai *et al.*, 2012).

Selain itu efek antioksidan yaitu redoks potensial dalam menurunkan stres oksidatif, dan berperan dalam menghambat lipid peroksidase dan sebagai *scavenging* radikal bebas (Stojanovic *et al.*, 2001). Resveratrol yang berperan dalam *scavenging* radikal bebas dapat meningkatkan SOD dan katalase (Zheng *et al.*, 2010). SOD akan mengubah O_2^- menjadi H_2O_2 dan dilanjutkan dengan katalase yang mengubah H_2O_2 menjadi H_2O yang tidak berbahaya (Alexander, 2003). Resveratrol juga berfungsi dalam menurunkan terjadinya apoptosis

dengan menurunkan Bax dan caspase 3 yang sangat berperan dalam mekanisme terjadinya apoptosis (Liu *et al.*, 2011). Sehingga resveratrol selanjutnya dapat mengurangi kerusakan sel neuron yang rusak.

Volume infark merupakan manifestasi dari terjadinya edema otak. Terjadinya edema otak juga melalui mekanisme eksitotoksikitas. Pelepasan glutamat yang berlebihan akan menyebabkan semakin meningkatnya influks Ca^{2+} dan Na^+ ke dalam sel yang kemudian akan menyebabkan terbentuknya gradient osmosis sehingga meningkat pula jumlah air yang masuk ke dalam sel. Hal ini mengakibatkan terjadinya edema intraseluler yang kemudian akan memberikan gambaran volume infark otak (Jha, 2003; Kaal dan Vecht, 2004). Resveratrol dapat menginduksi astroglia untuk *menguptake* glutamat sehingga tidak terjadi akumulasi yang berlebihan (Simao *et al.*, 2011). Resveratrol juga berfungsi untuk memperbaiki Na^+/K^+ -ATPase sehingga tidak terjadi akumulasi dari glutamat yang berlebihan dan dapat memperbaiki perpindahan Na^+ ke dalam sel sehingga dapat menurunkan juga jumlah air yang masuk ke dalam sel akibatnya edema otak dapat berkurang. Mekanisme yang lain ialah edema vasogenik yang terjadi karena adanya influks cairan dan *solute* ke dalam otak karena peningkatan sawar darah otak dan endotel sehingga terjadi penumpukan cairan di ekstraseluler (Kaal dan Vecht, 2004). Kerusakan sawar darah otak disebabkan oleh stres oksidatif (Lochhead *et al.*, 2010). Resveratrol sebagai antioksidan menurunkan stres oksidatif sehingga dapat menurunkan edema sitotoksik dan edema vasogenik (Yousuf *et al.*, 2009). Penurunan edema otak akan memberikan gambaran penurunan volume infark (Lin *et al.*, 1993).

Resveratrol sebagai antioksidan juga bisa menurunkan ROS agar tidak bereaksi dengan sel neuron (Quincozes-Santos dan Gottfried, 2011). ROS

merupakan oxidative stress yang bisa dikurangi oleh mekanisme *axonal sprouting* jalur respon pertahanan sel terhadap stres oksidatif (Ng *et al.*, 2012).

Dengan adanya proses *axonal sprouting*, akson dapat mengalami regenerasi sehingga neuron dapat menerima impuls dengan lebih baik yang menyebabkan fungsi motoris pun dapat dilakukan dengan lebih baik pula. Selain itu resveratrol juga meningkatkan Bcl-2 yang dapat meningkatkan neurogenesis dan menurunkan apoptosis neuron (Caroni, 1997; Zhang *et al.*, 2006).

Area di korteks otak yang bertanggung jawab untuk fungsi motorik disuplai oleh pembuluh darah arteri serebri anterior dan media yang pada keadaan iskemik mengalami sumbatan (Baehr dan Frotscher, 2010). Resveratrol memiliki efek anti aterogenik dan perbaikan disfungsi endotel sehingga dapat memperbaiki sumbatan yang terjadi (Berrougui *et al.*, 2009) (Zhang *et al.*, 2009). Fungsi motorik juga memiliki hubungan yang erat dengan neuron. Dengan terjadi perbaikan pada neuron sebagai penghantar impuls saraf maka kualitas fungsi motorik juga meningkat (Liu *et al.*, 2011).

2.6 Anggur (*Vitis vinifera*)

Anggur (*Vitis vinifera*) merupakan bagian dari famili vitaceae. Famili vitacea memiliki 17 genus yang sebagian besar berupa tanaman semak. Hanya satu genus yang memproduksi buah beri yang dapat dimakan yaitu *Vitis*. *Vitis vinifera* memiliki 60 spesies yang tersebar di Amerika dan Asia (Mullins *et al.*, 1992). Tanaman anggur dapat ditemukan di semua benua di dunia (Rukmana, 1999). Di Indonesia terdapat sentral-sentral penghasil anggur antara lain Pulau Pisang (Sumatera Barat), Ternate, Halmahera, Kupang, Makassar, Probolinggo, Pasuruan, Panarukan, Besuki dan Banyuwangi (Jawa Timur), Buleleng (Bali),

dan Lombok (Nusa Tenggara Barat) (Balai Penelitian Tanah, 2008; Rukmana, 1999).

2.6.1 Taksonomi *Vitis vinifera*

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Ordo	: Vitales
Famili	: Vitaceae
Genus	: <i>Vitis</i> L.
Spesies	: <i>Vitis vinifera</i>

(ITIS, 2013)

2.6.2 Morfologi Anggur (*Vitis vinifera*)

Tanaman anggur berbentuk perdu dan menjalar. Tubuh tanaman anggur terdiri dari akar, batang, daun, salur, bunga, dan buah. Batang tanaman anggur beruas-ruas, berbuku-buku serta berkayu. Daun tanaman anggur merupakan daun tunggal yang berarti hanya ada satu helai daun (Rukmana, 1999). Buahnya memiliki kulit yang tipis, rasa manis, dan segar. Anggur mampu hidup di dataran rendah dengan ketinggian 300 m dari permukaan laut, beriklim kering. Curah hujan yang dibutuhkan rata-rata 800 mm pertahun. Suhu rata-rata pada siang hari maksimal 31 derajat Celcius dan suhu rata-rata minimal pada malam hari 23 derajat Celcius dengan kelembaban udara 75-80% (IPTEK, 2005).

2.6.3 Jenis Anggur (*Vitis vinifera*)

Anggur (*Vitis vinifera*) memiliki beberapa jenis yang dapat tumbuh di Indonesia antara lain Gros Colman, Probolinggo Biru dan Putih, Situbondo

Kuning, Alphonso Lavalle, Golden Champion, dan Fragola (IPTEK, 2005).

Gambar anggur (*Vitis vinifera*) jenis Fragola dapat dilihat pada gambar 2.17.



Gambar 2.17 Anggur (*Vitis vinifera*) jenis Fragola

2.6.4 Kandungan Biji dan Kulit Anggur (*Vitis vinifera*)

Buah anggur secara keseluruhan mengandung berbagai macam vitamin dan zat antioksidan yang berguna bagi kesehatan. Buah anggur mengandung 0,4 gram protein, 0,36 gram lemak, 19,7 gram karbohidrat, 6 mg kalsium, 24,4 mg fosfor, 1,7 gram serat, 0,4 mg besi, 66 SI vitamin A, 0,05 mg vitamin B1, 0,02 mg vitamin B2, 3 mg vitamin C, 0,2 gram niacin, serta bahan-bahan phenol seperti flavonoid dan resveratrol (Wiryanta, 2004). Kandungan bahan phenol seperti flavonoid (tannin dan antosianin) serta resveratrol hampir tidak ada dalam buah anggur akan tetapi terdeposisi dalam biji dan kulit anggur. Bahan phenol yang ada antara lain asam phenolat (gentisic, salicylic, dan gallic cyclic) 40 µg/kg anggur (Geros *et al.*, 2012), stilbenes (resveratrol) 24,06 µg/ml (Perez, *et al.*,

2001) dan pada ekstrak biji anggur 0,9850 $\mu\text{g/ml}$ (Xiang Y, *et al.*, 2003), serta flavonoid (catechins, quecertin, dan anthocyanin) 16,0 mg/kg anggur (Bunea, *et al.*, 2012; Geros *et al.*, 2012).

